北海道大学
水産学部研究彙報

第12巻

BULLETIN
OF THE
FACULTY OF FISHERIES
HOKKAIDO UNIVERSITY

Vol. 12

1961 — 1962

北海道大学水産学部

函館市

FACULTY OF FISHERIES, HOKKAIDO UNIVERSITY
HAKODATE, JAPAN

北海道大学水産学部彙報

第 12 巻

総　目　次

第1号 (1961年5月)

第2号 (1961年8月)

第3号 (1961年11月)

第4号 (1962年2月)

BULLETIN
OF THE
FACULTY OF FISHERIES
HOKKAIDO UNIVERSITY

Vol. 12, 1961—62

No. 1, pp. 1— 92, May, 1961
No. 2, pp. 93—159, August, 1961
No. 3, pp. 161—245, November, 1961
No. 4, pp. 247—308, February, 1962

CONTENTS

オオカミウオ *ANARHICHAS ORIENTALIS* PALLAS の幼魚*, **

小　林　喜　雄

(北海道大学水産学部水産動物学教室)

Young of the Wolf-Fish, *Anarhichas orientalis PALLAS*

Kiyu KOBAYASHI

Abstract

The wolf-fish, *Anarhichas orientalis* PALLAS, is widely distributed in the North Pacific according to the reports of Barsukov ('59) and others. The young, however, have been left almost unknown.

Two specimens of the young were collected from the Okhotsk Sea, one measuring 40.2mm in total length at 40°04'N, 143°39'E, on June 13th, 1957, and the other measuring 116.2mm in total length at 51°00'N, 155°35'E, on Aug. 13th, 1958.

These young specimens have larger head length, interorbital width and orbital diameter than those of adults and the anus is situated at a more anterior position than in adults. In the specimen of 116.2mm length, some large canines are formed on the vomer, palatines, upper and lower jaws, the arrangement being almost similar to that of adults which was described by Barsukov ('59). But, in the specimen of 40.2mm, such canines are not formed on the palatines at all, while three vomerine teeth and some teeth observed on the upper and lower jaws are not complete. About five dark stripes are observed on both sides of the body of the larger specimen, but no stripe is observed on the smaller one. Moreover, in the former, bright orange-red color on the marginal region of fins was still observed after a month in formalin immesion.

従来本種は，JORDAN & EVERMANN (1898)，EVERMANN & GOLDSBOROUGH ('07)，POPOV ('31)，TARANETZ ('37)，ANDRIASHEV ('54)，松原 ('55)，LINDBERG ('59) 及び BARSUKOV ('59) 等の報告に依ると，北太平洋の東西両岸に広く分布するが，数は少く其の生態に就いても殆んど知られて居ない。

本種の幼稚魚に就いては ANDRIASHEV ('54) が全長170mmの幼魚に就いて記載し，又ベーリング海の洋上で5月に全長19mmの本種稚魚を得た事を記録して居るが，其の形態に関しては明らかにされて居ない。其の後 BARSUKOV ('59) がオオカミウオ科 Anarhichadidae の総括的な研究の中で，オオカミウオ属 *Anarhichas* の4種に就いて詳細に記載し，且つこれ等4種の検索表を成魚（全長200mm以上）と幼魚（全長70～200mm）別に作製して居る。更に大西洋産の *A. minor* OLAFSEN 及び *A. lupus* LINNÉ に就いては其の幼稚魚期の形態に就いて可成り詳細に記載して居る。然し太平洋産のオオカミウオ *A. orientalis* PALLAS に就いては，南樺太，オホーツク海及びカムチャツカ東岸からの全長 150～1120 mmに亘る5個体の幼魚及び成魚に関する記載があるが，幼稚魚期の形態に関する記載は少い。

筆者は1957年6月に北海道区水産研究所調査船に依り，北海道オホーツク海沿岸沖の表層から稚魚ネットに依つて得られた全長40.2mmの標本，及び1958年8月に北海道大学練習船北星丸に依り，北洋漁業調査資料の一部としてカムチャツカ半島南西岸沖の表層から同じく稚魚ネットに依つて採集された全長 116.2 mmの標本*** と計2個体の標本を観察する機会を得，本種の幼期に於ける形態及び色彩等の一部を知る事が出来たので，此処に1960年5月，北洋水産株式会社調査船加能丸に依る底曳網採集で，ベーリング海東部水域

---

* 北海道大学練習船業績 No. 21

** 本研究の一部は昭和35年度文部省科学研究費（佐藤信一）に依つて行われた。

*** 採集記録は海洋調査漁業試験要報（北大水産）第3号参照。

から得られた1個体の成魚標本の形態の概要と共に記述する。

尚本研究の端緒を与えられた故北海道大学水産学部教授佐藤信一氏に深甚なる謝意を捧げると共に，本稿を草するに当り御校閲の労を賜つた北海道大学水産学部教授岡田嶲博士に感謝する。又標本の採集に御協力を得，提供を受けた北海道大学練習船北星丸船長三島清吉氏及び乗組員並びに調査員諸氏，北海道区水産研究所飯塚篤技官他研究員諸氏，並びに北洋水産株式会社錦洋丸船団長斎藤市郎博士，能生水産高等学校練習船加能丸乗組員並びに調査員諸氏，及び北海道大学水産学部助教授小藤英登氏，前田辰昭氏に併せて感謝する。

Anarhichas orientalis Pallas

オオカミウオ

Anarhichas orientalis: Jordan & Evermann, 1898, Bull. U. S. Nat. Mus. (47), 2447; Andriashev, 1954, The fishes of northern seas of the Soviet Union, 227–228; Barsukov, 1959, Fauna U.S.S.R., Fishes, **5** (5), Wolf-fishes (Anarhichadidae), 110–115

Anarhichas lepturus: Jordan & Evermann, 1898, Bull. U. S. Nat. Mus. (47), 2447

成魚の形態

標本番号 No. 17486 全長792mm

採集年月日時：1960. 5. 31，13:30；採集位置：59°35′N，165°49′W

D. 83; A. 53; P. 21

体長738mmに対する体各部の百分率は，頭長が21.9%，吻長が7.1%，上顎長が15.3%，両眼間隔が4.7%，眼窩径が3.0%，尾柄高が3.9%，体高は20.6%，又吻端から肛門迄の距離は50.9%で，肛門は体のほぼ中央に位置する。鋭い犬歯が上下顎，鋤骨及び口蓋骨に在る。腹鰭は無い。

体色はホルマリン固定標本で，黒灰色で，不規則な黄白斑が体全体に見られる（Fig. 1.）。

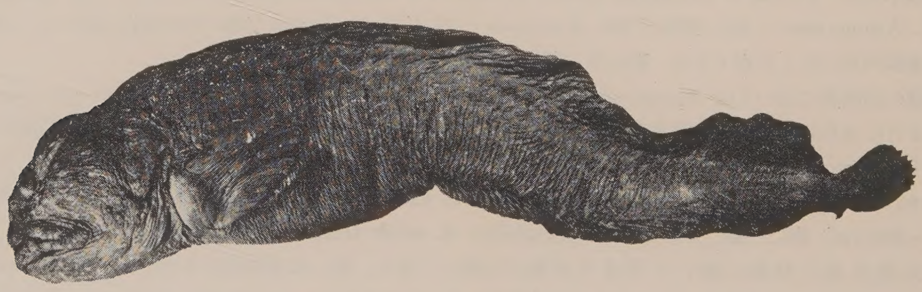


Fig. 1. Wolf-fish, *Anarhichas orientalis* Pallas T.L. 792mm

次に消化管内容物を検した結果，腹足類（Gastropoda）に属する巻貝の蓋（operculum）が肉片を附したまま4個と貝殻の小片約2個及びヤドカリ類（*Eupagurus* sp.）が約6個体観察された。

標本はベーリング海東部水域に於いて能生水産高等学校練習船加能丸に依る底曳網で得られ，小藤英登助教授の観測記録に依ると，採集位置の水深は22mで，底質は貝殻混りの砂，採集時の底水温は1.94°Cであつた。

幼魚の形態

標本番号 No. L-1909 全長 40.2mm

採集年月日時：1957. 6. 13, 20:45; 採集位置：45°04′N, 143°39′E

D. 87; A. 50; P. 20

体長34.6mmに対する体各部の百分率は，頭長が25.4%，吻長が6.3%，上顎長が13.8%，両眼間隔が7.8%，眼窩径が7.8%，尾柄高が4.9%，体高は18.7%，又吻端より肛門迄の距離は44.2%，最長背鰭長は9.5%，最長臀鰭長は6.9%，胸鰭長は16.1%である。尚 X ray に依り計測した脊椎骨数は86（尾下骨を除く）である。腹鰭は無い。

歯は長く鋭い犬歯が上下顎及び鋤骨にあり，其の配列は第2図に示す様に鋤骨に3歯があるが口蓋骨には認められない。上顎には左右各側に6本宛計12本が不規則に並ぶ。下顎には同じく左右各側に6本宛，其のやや先端部附近の内側に小形の歯が5本宛，大小計22本の犬歯が発達して居る。

体色は，ほぼ一様に褐色点が散在し，体側の背面近くに約12〜13個の斑紋があり，肛門前部の約5個程はくずれる様に体側中央に拡がる。背鰭の外縁近くに約6個の斑紋があり，また基部附近では背面の斑紋が僅かに入り込み，其の度合は特に尾部附近で顕著である。臀鰭では約3個の斑紋となつて尾部附近では背鰭に於けると同じ様に広く拡がつて居る。胸鰭及び尾鰭は無色である（Plate 1—Fig. 1）。

標本番号 No. L-1171 全長 116.2mm

採集年月日時：1958. 8. 13, 18:40; 採集位置：51°00′N, 155°35′E

D. 84; A. 56; P. 19

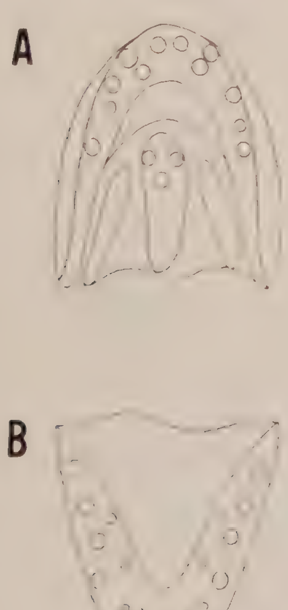


Fig. 2. Formation of the canines on palate of the young wolf-fish, 40.2mm in total length A: Upper jaw; B: Lower jaw

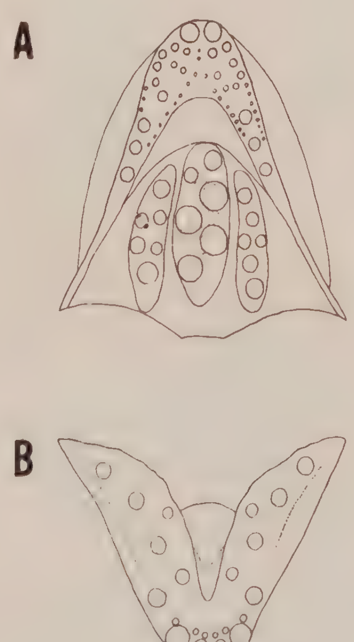


Fig. 3. Formation of the canines on palate of the young wolf-fish, 116.2mm in total length A: Upper jaw; B: Lower jaw

体長106.2mmに対する体各部の百分率は頭長が23.0%，吻長が5.5%，上顎長が10.6%，両眼間隔が6.0%，眼窩径が4.4%，尾柄高が4.6%，体高は21.1%，又吻端より肛門迄の距離は45.5%，最長背鰭長は11.5%，最長臀鰭長は7.2%，胸鰭長は12.7%である。尚 X-ray に依り計測した脊椎骨数は87（尾下骨を除く）である。胸鰭は無い。

歯は長く鋭い犬歯が上下顎及び鋤骨，口蓋骨に発達して居り，其の配列は第3図に示す様に鋤骨に約6歯，また左右の口蓋骨にそれぞれ6歯がある。上顎には約22歯が不規則に1～2列に並び先端部の2歯は特に長く鋭く，其の内側に小歯がある。下顎では左右各側に8本宛計16本の鋭い歯があるほか，先端附近ではその外縁及び内縁に小歯がある。

体には黒褐色の不規則な縦縞が約5条尾柄に至る迄走り，頭部では不規則な斑紋となる。背鰭には約9個の斑紋があり，基部附近では縦にくずれて，あたかも体側に見られる縦縞と同じ様な縞となる。臀鰭では約4個の斑紋がある。胸鰭では中部に横縞様の黒色部がある。尚ホルマリン固定後約1カ月の観察結果では，図版に示す様に，背鰭，臀鰭及び尾鰭の外縁を非常に鮮やかな橙赤色が縁取る。尚同じく胸鰭中部の黒色横帯外縁に橙赤色部がある（Plate 1—Fig. 2）。

1957年6月及び1958年8月にオホーツク海から得られた，全長40.2mm及び全長116.2mmの2尾の幼魚から其の体各部の成長に伴う形態変化に就いて見ると，頭長及び両眼間隔，眼窩径等の体長に対する割合は，幼期に於いては特に他の部分より大きい。また肛門の位置は幼期に於いては，成魚に於けるよりもやや前位にあり，この事は Barsukov（'59）も吻端より肛門迄の距離は成魚では体長の約50%，幼魚では約45%であると述べて居る事と一致する。歯は全長116.2mmのものでは鋭い犬歯が，上下顎，鋤骨及び口蓋骨に良く発達し，Barsukov（'59）の図版（I，II）に示されて居る成魚のそれにほぼ近い配列を示すが，全長40.2mmのものでは未だ発達は不完全で，口蓋骨歯は認められない。

次に体色に就いては全長40.2mmのものでは将来縦縞となると考えられる不規則な斑紋が体側及び背鰭，臀鰭に見られるが，尾鰭及び胸鰭は無色である。また全長116.2mmの標本では Andriashev（'54）が示した全長170mmのもの及び Barsukov（'59）が記載した150～170mmのものに見られる様な約5条の縦縞が体側にある他に，ホルマリン固定後約1カ月で観察した結果では，各鰭の外縁に橙赤色帯がある。

文　　献

Andriashev, A. P. (1954). *The fishes of northern seas of the Soviet Union.* 566p. Moscow, Acad. Sci. U.S.S.R.

Barsukov, V. V. (1959). *Fauna U.S.S.R., Fishes,* 5 (5), *Wolf-fishes (Anarhichadidae).* 171p, Moscow, Acad. Sci. U.S.S.R.

Evermann, B. W. & Goldsborough, E. L. (1907). The fishes of Alaska. *Bull. Bureau Fish.* 26, 219-360.

Jordan, D. S. & Evermann, B. W. (1898). Fishes of the North and Middle America. *Bull. U. S. Nat. Mus.* (47), 1-3313.

Lindberg, G. U. (1959). A list of the fauna of the sea waters of the South Sakhalin and South Kuril Islands. Investigations of the waters of Far East, U.S.S.R. VI. *Report of the Kuril-Sakhalin Expedition,* 2, 173-256.

松原喜代松 (1955). 魚類の形態と検索. I—III, 1605p, 東京, 石崎書店.

Popov, A. M. (1931). *Anarhichas orientalis* Pall. (Pisces), sa position systematique et sa distribution, avec des considerations sur less *Anarhichas* de l'URSS. *Compt. Rend. l'Acad. Sci. l'URSS,* 380-386.

Taranetz, A. J. (1937). Handbook for identification of fishes of Soviet Far East and adjacent waters. *Bull. Pacific Sci. Inst. Fish. Oceanogr.* 11, 1-200.

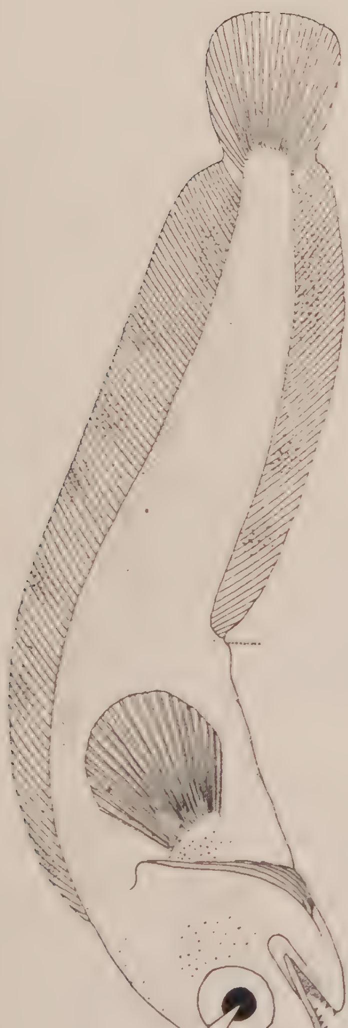


Fig. 1. T.L. 40.2mm



Fig. 2. T.L. 116.2mm

Young of wolf-fish, *Anarhichas orientalis* PALLAS

オホーツク海から得られた *PTILICHTHYS GOODEI* BEAN の仔稚魚に就いて*,**

小　林　喜　雄
（北海道大学水産学部水産動物学教室）

Larvae and Young of the Quill-Fish, *Ptilichthys goodei* BEAN, from the Okhotsk Sea

Kiyu KOBAYASHI

Abstract

Twenty nine specimens of larvae and young of the quill-fish, *Ptilichthys goodei* BEAN were collected during the cruises to the North Pacific of the training ship "Hokusei Maru" of Hokkaido University, in 1958, 1959 and 1960 with a fish larva net; the most part of them were from the Okhotsk Sea and some from offshore the North Kurlies during the period from June 10th to August 20th on these cruises.

It has been known that this species is distributed in the North Pacific from offshore north-western America to the Bering Sea including off the east coast of the Kamchatska Peninsula. The present paper is the first record on the species from the Okhotsk Sea and north-western North Pacific.

The specimens ranged 47.0～163.5 mm in total length. The minimum specimen measuring 47.0 mm was collected on June 10th, 1960. It has larval fin form in which some fin rays are developing slightly in the pectoral, second dorsal and anal fins. A specimen measuring 86.5 mm was collected on July 12th, 1959, of which the fleshy tip of the lower jaw is in process of becoming elongated, but fin rays have still not developed to their full number. The full number of fin rays was observed on a specimen measuring 135.4 mm which was collected on August 18th, 1958. A specimen measuring 144.6 mm was collected on August 14th, 1960 of which the lower jaw remarkably projects in fleshy tip and elongated tip of caudal portion represents about six percent of the body length.

本種は従来，GILBERT (1895)，JORDAN & EVERMANN (1898)，EVERMANN & GOLDSBOROUGH ('07)，SCHULTZ ('37)，TARANETZ ('37) 及び CLEMENS & WILBY ('49) 等の報告に依つてアメリカ北西太平洋沿岸からアラスカ，アリューシャン水域を含むベーリング海に亘る北太平洋水域に分布することが知られて居るが，未だオホーツク海及び千島列島沖等の北西太平洋水域からの記録は無く，其の仔稚魚期に於ける形態に就いて未だ報告が無い。

筆者は，1958年から1960年の6月～8月に亘る間，北海道大学練習船北星丸に依つて主としてオホーツク海から得られた28個体及び北海道区水産研究所調査船に依って1957年6月，北海道オホーツク海沿岸沖から得られた1個体，計29個体の本種の仔稚魚を観察する機会を得，体各部の形成過程に就いて知ることが出来たので此処に記述する。

標本は何れも稚魚ネット（口径130cm；長さ450cm）を10分間表層曳網して得られたもので，其の採集位置其の他の記録は，海洋調査漁業試験要報，第4号（1960），第5号（1961）に報告した。第1図に見られる様に本種はカムチャツカ半島南西岸沖，オホーツク海及び北千島列島沖等の北西太平洋水域で得られた。

* 北海道大学練習船業績 No. 22

** 本研究の一部は昭和35年度文部省科学研究費（佐藤信一）に依つて行われた。



Fig. 1. Collection-sites of the young of the quill-fish, *Ptilichthys goodei* Bean which were collected with the fish larva net during the cruises to the North Pacific, of the training ship "Hokusei Maru" of Hokkaido University, in 1958(○), 1959(×) and 1960(△)

尚本種の採集時に於ける表面水温は1959年の資料に依ると6月で4.9°C 7月で6.4°C，8月で10.4〜12.8°Cである。

尚本研究の端緒を与えられた故北海道大学水産学部教授佐藤信一氏に深甚なる謝意を捧げる。また本稿を草するに当り原稿の御校閲を受けた北海道大学水産学部教授岡田雋博士に感謝する。尚本研究資料の大部分は北海道大学練習船北星丸に依つて北洋漁業調査資料の一部として採集されたもので此処に北星丸船長三島清吉氏以下乗組員諸氏並びに各年に亘り乗船調査に当られた調査員各位に深謝し，併せて研究資料の一部を御寄贈戴いた北海道区水産研究所飯塚篤技官他研究員諸氏に感謝する。

仔稚魚の形態

標本番号 L-2026，〃A〃
全長47.0mm

採集年月日時：1960. 6. 10, 20:30；採集位置：47°08′N, 150°38′E

頭長2.5mm；体高1.1mm 吻端より肛門迄の距離14.5mm

体は未だ不完全で，稚魚鰭膜に取り囲まれる。下顎は突出せず，鰭条は胸鰭に約10条，背鰭軟条部の肛門上部附近に約40条と臀鰭では起部より約142条が計測されるが，後部では原基も全く認められない。尾端は一様に稚魚鰭膜で囲まれる。

黒色素胞は頭部では下顎に1列に並ぶ他，殆んど無い。腹部では体側中央線下に散在し肛門に至り，また腹中線に密に並ぶ。尾部では臀鰭基底部に沿つて散在する他，尾端部近くでは僅かに臀鰭上に点在する。また尾部背側に肛門上部附近より尾部末端部に至る迄，極く少数の黒色素胞が点在する（Fig. 3A, 4A）。



Fig. 2. A quill-fish, *Ptilichthys goodei* Bean, measuring 135.4 mm in total length from the Okhotsk Sea

標本番号　L-1431，〃B〃 全長66.0mm

採集年月日時：1959. 6. 14, 20:30；採集位置：49°43′N，157°05′E

D. LXXIX-ca 141；A. ca 166；P. ca 13；Branchiostegals 6

頭長3.5mm；体高1.5mm；吻端より肛門迄の距離21.0mm；吻端より第2背鰭起部迄の距離26.0mm.

下顎は上顎より僅かに突出するが，下顎先端に膨出部は無い。尾端は稚魚鰭膜に囲まれ先端は伸長しない。尚腹面に稚魚鰭膜が残る。

黒色素胞は頭部では極く僅かに下顎及び鰓蓋部にあり，腹部では腹側面に散在し，尾部では臀鰭基底に沿つて尾端迄点在し，末端部では臀鰭上にも散在する。又尾部背面に極く僅かに散在する（Fig. 3B, 4B）.

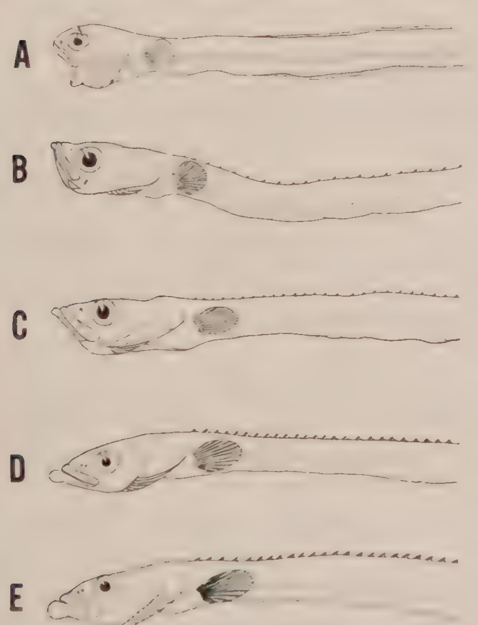


Fig. 3. Formation of the fleshy tip of lower jaw of the quill-fish, *Ptilichthys goodei* Bean
A: T.L. 47.0mm; B: T.L. 66.0mm; C: T.L. 86.5mm; D: T.L. 135.4mm; E: T.L. 144.6mm

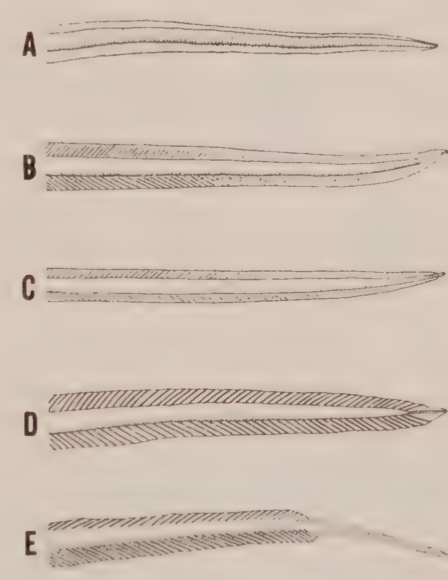


Fig. 4. Formation of the tip of caudal portion of the quill-fish, *Ptilichthys goodei* Bean
A: T.L. 47.0mm; B: T.L. 66.0mm; C: T.L. 86.5mm; D: T.L. 135.4mm; E: T.L. 144.6mm

標本番号　L-1541，〃C〃 全長86.5mm

採集年月日時：1959. 7. 12, 19:30；採集位置：50°39′N，154°23′E

D. LXXXII-153；A. ca 175；P. ca 11；Branchiostegals 6

頭長4.0mm；体高1.5mm；吻端より肛門迄の距離26.0mm；吻端より第2背鰭起部迄の距離36.0mm.

下顎突出部に僅かに膨出部が見られる。尾端は僅かに伸長する。又尾部末端部では背鰭及び臀鰭条の発達は不完全である。

黒色素胞は頭部では下顎及び鰓蓋部に僅かに見られ，腹部では腹側面に散在する。又尾部では臀鰭基底に沿つて点在し，末端部では臀鰭上にも散在する。尚尾部背面にも僅かに散在する（Fig. 3C, 4C）

標本番号 L-1139, 〃D〃 全長135.4mm

採集年月日時：1958. 8. 18, 18:55；採集位置：50°38′N, 154°56′E

D. LXXXIII-151；A. 193；P. 13；Branchiostegals 6

頭長7.1mm；体高2.2mm；吻端より肛門迄の距離37.9mm；吻端より第2背鰭起部迄の距離54.8mm.

下顎は上顎より僅かに突出し，其の先端は薄膜状に膨出する。腹鰭は無い。尾端は伸長し，背鰭及び臀鰭とは鰭膜に依つて連続する。鰭条は何れも良く発達し，定数に達して居る。

黒褐色素胞は頭部では，頭頂部，鰓蓋部及び吻に散在し，腹部では腹側部に散在する。尾部では臀鰭基底に沿つて点在し，尾端近くでは臀鰭上に僅かに散在する。又尾部背側にも僅かに散在する (Fig. 2,3D,4D)。

標本番号 L-2157, 〃E〃 全長144.6mm

採集年月日時：1960. 8. 14, 19:10；採集位置：53°20′N, 155°27′E

D. LXXXI-157；A. 190；P. 11；Branchiostegals 6

頭長6.5mm；体高2.5mm；眼径1.5mm；吻端より肛門迄の距離37.9mm；吻端より第2背鰭起部迄の距離54.7mm；背鰭軟条部の高さ1.5mm；臀鰭の高さ2.0mm.

体は完成し，下顎の膨出部はやや円型に近く，又尾部の糸状伸長部は長く，其の長さは8.4mmで体長の約6%に達する。

黒褐色素胞は頭部では，頭頂部，項部，鰓蓋部及び吻に散在し，又下顎膨出部に密布する。腹部では腹側部に散在する。又尾部では体側中央下部に散在し，尾端近くでは臀鰭上にも散在する。尚尾部背側部に僅か乍ら点在し，尾部伸長部では比較的多く散在する (Fig. 3E, 4E)。

1957〜1960年に亘る間の6〜8月に，主としてオホーツク海南東海域に於いて得られた全長47.0〜163.5mmに亘る29個体の標本の中，代表的標本5個体に就いて成長に伴う形態の変化を観察したが，第3図及び第4図に示す様に，背鰭及び臀鰭の鰭条形成。特に下顎膨出部の形成状態，尾端伸長部の伸長状態等に著しい変化が観察された。

即ち，1960年6月10日に採集された全長47.0mmのものでは未だ体の形成は全く不完全で，鰭条原基も極く僅かに認められる程度で一様に稚魚鰭膜に囲まれて居る。1957年7月12日に採集された全長86.5mmのものでは下顎の膨出が僅かに見られ，尾端も僅かに伸長するが，背鰭及び臀鰭条の発達は不完全である。1958年8月18日に採集された全長135.4mmのものでは尾端伸長部は可成り伸び，各鰭条は良く発達し定数に達する。又1960年8月14日に採集された全長144.6mmのものでは，下顎膨出部はやや円型に近く発達し，尾部伸長部は長く伸びて其の長さは体長の約6%に達し，体は完成する。

文　　献

Clemens, W. A. & Wilby, G. V. (1949). Fishes of the Pacific coast of Canada. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, (68), 1-368.

Evermann, B. W. & Goldsborough, E. L. (1907). The fishes of Alaska. *Bull. Bur. Fish.* **26**, 219-360.

Gilbert, C. H. (1895). The ichthyological collections of the Steamer Albatros during the years 1890 and 1891. *Rep. U. S. Comm. Fish & Fisheries, for 1893*, 393-476.

Jordan, D. S. & Evermann, B. W. (1898). The fishes of North and Middle America. *Bull. U. S. Nat. Mus.* (47), 1-3313.

Schultz, L. P. (1936). Keys to the fishes of Washington, Oregon and closely adjoining regions. *Univ. Wash. Pub. Biol.* **2** (4), 103-228.

Taranetz, A. J. (1937). Handbook for identification of fishes of Soviet Far East and adjacent waters. *Bull. Pacific Sci. Inst. Fish. Oceanogr.* **11**, 1-200.

地表波によるロラン位置の線の測得誤差について

齋　藤　昭　二
（北海道大学水産学部練習船おしょろ丸）

On the Error of Loran Lines of Position due to Ground Waves

Shoji SAITO

Abstract

In order to obtain the probable error of Loran lines of position measured by a ship at sea, on the cruises of the training ship "Oshoro Maru" of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, the writer observed a number of errors of Loran lines of position during the period from 5th of Nov. 1959 to 18th of Dec. 1960.

The method of obtaining error is as follows:

Estimating the ship's position fixed by cross bearing with gyro compass and Radar at coasting.

The error is represented by the length of a perpendicular drawn from the ship's position to the Loran line of position.

Here, the error of the Loran line of position can be expressed as formula (1) of the present article.

Let e …… error of Loran line of position

a …… geometrically non-variable error

b / $0.081\times\triangle t$ } …… error on the baseline due to error of measurement of time difference

$\triangle t$ …… error of measurement of time difference (μ sec)

φ …… the angle between the two directions from the observer to the two stations

Thus, then substitute the number of observed errors e and their angle φ in formula (1); the values of a^2 and b^2 can be obtained by the method of least squares.

Transforming them into probable errors, one obtains formula (5).

The result of the calculation is shown in Table 3; it is expressed as the solid line in Fig. 1.

I 緒　　　　言

外洋航海において船位決定の手段としては，従来大体天測によつているが，近時電波航法が発達し，ロラン局の増設及び受信機の普及によりロランの利用機会が多くなつて，時間や天候に制約されず船位が常時求められるようになつた。

しかして，天測による船位に対し，このロランによる船位の精度については航海者にとつて直接関係深い問題である。これを解決するにはロラン位置の線の定量的な誤差を知る必要があるが，これに関し，鮫島による「ロラン位置の線の精度について」(1)の論文があげられる。

ロランによる決定船位の誤差を求めるには，まず単一位置の線の精度が問題となるが，今回本邦太平洋岸にもロラン局が新設されたのを機会に，ロラン位置の線の誤差の測定実験を試みた。これはおしょろ丸（北海道大学水産学部練習船）の航海を利用し，昭和34年11月5日から昭和35年12月18日までの間に行い，地表波による位置の線の陸測船位に対する誤差を測定整理したのである。

II 測定及び方法

一組のロラン局からの信号を受信すると同時に陸標により船位を決定し，これから求めたロラン位置の線

Table 1. Observational results of errors of Loran lines of position

Rates	φ	e	Ship's speed	Rates	φ	e	Ship's speed
	°	mile	kt		°	mile	kt
2S1	10.5	0.1	8.7	2H4	75	1.1	8.8
2H3	13	0.1	9.0	1L4	80	0.6	0.0
2S1	13	2.2	8.6	2H6	81	0.65	9.3
〃	13	1.0	10.0	〃	83	0.15	8.7
〃	14	0.5	8.9	〃	83	0.4	8.5
1L7	14.5	0.8	0.0	2H2	84.5	0.6	9.2
2S1	15.5	2.9	10.0	2S2	88	1.5	8.6
2H3	15.5	1.6	8.0	2H3	88	0.9	8.8
1L7	16	0.05	9.2	2H2	95	0.5	9.8
1L6	16	1.05	9.3	2S1	103	0.7	8.6
1L7	17	0.8	9.2	2H3	114	1.8	8.0
2H3	18	0.5	9.5	2H4	122.5	0.55	9.3
1L7	19	0.3	9.7	〃	127.5	0.8	9.3
2S1	19	1.8	9.2	2H3	129	0.4	0.0
2H4	20.5	0.35	7.4	2S1	138	0.05	7.0
〃	23.5	1.25	8.8	2H3	139	0.16	9.8
〃	25	0.6	7.0	2H4	140.5	0.4	9.0
〃	28	0.65	0.0	2S1	141	0.2	8.9
1L6	31.5	0.6	8.4	2S2	150.5	0.3	10.0
2H4	31.5	0.8	9.4	2H4	153	0.4	9.3
2S1	38.5	1.2	10.0	2H3	154	0.43	9.2
2H3	40	0.1	9.0	1L6	155	1.6	10.0
1L6	40.5	1.5	0.0	2H4	157	0.35	9.0
2H5	41.5	0.85	8.8	1L2	158.5	0.05	0.0
2H3	42	0.05	9.3	2H5	159.5	0.35	7.4
1L3	43.5	0.5	0.0	2H4	160.5	0.55	9.8
2H3	43.5	0.3	9.8	2H3	161.5	0.25	7.6
1L7	47.5	1.05	8.4	1L6	166	0.45	9.7
2H4	49.5	0.2	0.0	2H4	167	0.25	9.5
〃	60	0.2	8.0	1L7	168.5	0.15	9.3
2H3	60.5	0.05	9.3	2H3	170	0.3	9.4
2H5	61	0.75	9.0	2S2	172	0.5	8.9
2H3	65.5	0.5	9.3	2H4	172	0.7	9.8
2S2	68	0.35	8.6	2S1	175	0.05	9.1
2H5	71.5	0.4	8.7	2H5	177	0.7	7.0
〃	72	0.5	8.7	2S2	179	0.25	10.0
〃	73	2.3	9.3	2H4	179.5	0.05	8.0
1L4	73.5	0.9	7.0	2S2	180	0.2	10.0

φ: Angle between the two directions from the observer to the two stations

ε: Observed errors of Loran lines of position

に垂線を下してその距離を測り測得誤差とした。またこの船位から二つのロラン局の夾角も測定した。なおロラン位置の線はすべて地表波の受信により求め，船位決定も全部陸側によつた。

ロランの受信には Sperry Marine Loran Mark 2 Mod. 2 を使用し，陸測は Sperry Gyro Compass Mark 14 により交叉方位法を主とし，状況に応じて Sperry Marine Rader Mark 2 DO も使用し真方位及び距離を測定した。

方法はまずロラン指示器により，高速走査で信号波形を重ね合わせてそのままの状態にし，次に予定した著明な陸上物標を測定し，再び波形を正確に重ね合わせて時間差の読取りを行つた。この陸測を始めてからロランの受信信号を重ね合わせるまでの所要時間は約 1 min 以内であつた。

なおロランの受信は正確を期するため，高速走査のとき波形の不安定な信号は測定の対象とせず，また位置の線を求める場合はすべてロラン・テーブルにより計算し，記入する際もなるべく縮尺の大きい海図を使用した。

Table 2. Distribution of frequency of observation to each rates

Rates	Approx. base-line length	Frequency of obs.
	mile	
2H2	207	2
2H3	230	15
2H4	324	14
2H5	725	4
2H6	600	3
2S1	274	11
2S2	223	6
1L4	487	2
1L6	228	1
1L7	240	3
1L6 N	455	4
1L7 N	380	3
1L2 N	213	1
1L3 N	405	1
2H5 W	210	3
2H4 W	260	3

N: Area of North Pacific
W: Area of west coast of U.S.A.

III 測 定 結 果

測定実験は総数76例で，これを夾角の順序にまとめたものを Table 1に示す。測定中の船速は，表に示すとおり碇泊及び漂泊のため 0 kt の場合が約1割で，他は 7～10 kt が大部分である。

次にロラン組局別の実験回数をまとめて Table 2 に示す。標準組局の基線の長さは 300 mile(2)とされているが，Table 2より，基線の長さ 400mile 以上の組局の測定回数は14例で，他の62例は大体標準局の測定とみてよかろう。なお標準局の発信同期の中央誤差は 1 μ sec であるが(2)，基線の長さの比較的長い組局の場合は，雑音の少い位置などの条件から発信同期の保守は良好に保たれている(2)といわれている。

IV ロラン位置の線の誤差の一般式

ロランの単一位置の線の誤差は，時間差測定の誤差に基く位置の線の偏位誤差と，船位と発信組局との関係位置に無関係な定誤差的なものとによることは既に知られている。

ロラン位置の線の偏位誤差 e はこれらの二つが綜合されたものであると考えて，次のような一般式(1)で表わされる。

$$e=\sqrt{a^2+b^2\operatorname{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}$$

又は

$$=\sqrt{a^2+(0.081\times\Delta t)^2\operatorname{cosec}^2\frac{\varphi}{2}} \quad \cdots\cdots(1)$$

但し a …… 関係位置によつて変化しない誤差

b …… 時間差測定誤差に基く基線上の偏位誤差

φ …… 船位から測つた発信組局間の夾角

Δt …… 時間差測定誤差 (μ sec)

0.081 …… 光の速さの半分で，1 μ sec の時間差に対する基線上の偏位量 (mile)

なお，時間差測定の中央誤差は約1 μ sec である(2)と言われている。

V 実 験 式

（1）式により，実測誤差 e と，その夾角 φ とが多数得られれば，未知量 a，b の値を求めることができる。しかしこのままの形では最小自乗法ができないので，a，b それぞれの近似値を用いてテイラー展開して二次項以下は捨て一次式に改める。

$$e=f(a,b)=\sqrt{a+b\ \mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}$$

今 $a=a_0+\Delta a$

$b=b_0+\Delta b$ とおけば，

$$e=f(a_0,b_0)+\left(\frac{\partial f}{\partial a}\right)_0\Delta a+\left(\frac{\partial f}{\partial b}\right)_0\Delta b$$

$$\therefore\ e=\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}+\frac{1}{2\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}\Delta a+\frac{\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}{2\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}\Delta b$$

$$e-\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}=\frac{1}{2\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}\Delta a+\frac{\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}{2\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}\Delta b \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(2)$$

観測方程式（2）式から正規方程式を導き，Δa，Δb を求めると，

$$\Delta a=2\frac{\left(\frac{\mathrm{cosec}^4\frac{\varphi}{2}}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)\left(\frac{e}{\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}-1\right)-\left(\frac{\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)\left(\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}\left(\frac{e}{\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}-1\right)\right)}{\left(\frac{1}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)\left(\frac{\mathrm{cosec}^4\frac{\varphi}{2}}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)-\left(\frac{\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)^2}\cdots(3)$$

$$\Delta b=2\frac{\left(\frac{1}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)\left(\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}\left(\frac{e}{\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}-1\right)\right)-\left(\frac{\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)\left(\frac{e}{\sqrt{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}}-1\right)}{\left(\frac{1}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)\left(\frac{\mathrm{cosec}^4\frac{\varphi}{2}}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)-\left(\frac{\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}{a_0+b_0\,\mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}\right)^2}\cdots(4)$$

となる。

そこで Table 1 の実測誤差とその夾角の測定値76例と，次の近似値

$$a_0=1.0$$

$$b_0=0.01$$

とを用いて（3），（4）式によつて計算した結果，

$$\Delta a=-0.89700$$

$$\therefore\ a=1.0-0.89700$$

$$=0.10300$$

$$\Delta b=+0.00025$$

$$\therefore \quad b = 0.01 + 0.00025$$
$$= 0.01025$$

故に

$$e = \sqrt{0.10300 + 0.01025 \operatorname{cosec}^2 \frac{\varphi}{2}}$$

したがつて，これを中央誤差に改めれば，

$$r = 0.8453\ e$$
$$= \sqrt{0.7145(0.10300 + 0.01025 \operatorname{cosec}^2 \frac{\varphi}{2})}$$
$$= \sqrt{0.0736 + 0.0073 \operatorname{cosec}^2 \frac{\varphi}{2}} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (5)$$

となる。

Table 3. Obtained probable errors of Loran lines of position

φ	r
2°	4'.91
4°	2'.47
6°	1'.66
8°	1'.26
10°	1'.02
15°	0'.71
20°	0'.56
25°	0'.48
30°	0'.43
35°	0'.39
40°	0'.37
60°	0'.32
100°	0'.29
180°	0'.28

φ: Angle between the two directions from the observer to the two stations

r: Probable errors of Loran lines of position

実験式（5）により，各夾角に対する中央誤差を計算したのが Table 3 で，Fig. 1 の実線による曲線である。

これらより，夾角が小さい場合は誤差が大きいということがわかる。また夾角 5°以下のときはその誤差が 2 mile 以上となり利用不適当としなければならない。

VI 推測中央誤差との比較

基線の長さが 300mile の標準組局の場合で，H時間差測定の中央誤差が 1 μ sec，またロラン位置の線の誤差全体として，地表波利用面積の 80%に対して 1'.5 以下の誤差が得られる[3]，という条件から計算した推測中央誤差は[1]，鮫島によると

$$r = \sqrt{0.235 + 0.0066 \operatorname{cosec}^2 \frac{\varphi}{2}} \quad \cdots\cdots\cdots (6)$$

で表わされる。そこでこれを計算し Fig. 1 の点線による曲線で示す。

さて，実験式（5）の b^2 の値は0.0073であるから，（1）式により

$$0.0073 = (0.081 \times \Delta t)^2$$
$$\Delta t^2 = \frac{0.0073}{0.006561}$$
$$\therefore \quad \Delta t = \sqrt{1.11598}$$
$$= 1.056\ \mu\ \mathrm{sec}$$

となり，時間差測定の中央誤差は 1.05 μ sec で，1 μ sec よりもわずかに大きいがよい結果であると考えられる。

また（5）式の a^2 の値は0.0736で[illegible]，この原因は，[illegible]ロラン受信までの経過時間[illegible]による誤差が影響し，[illegible]各夾角[illegible]，その数の分布は Fig. 1 にみるとおり夾角 140°[illegible]，これらはある程度影響されているものと[illegible]小さい，[illegible] Loran system そのものが非常に正確であるとは言えないが，あまり大きな誤差はないと考えられる。

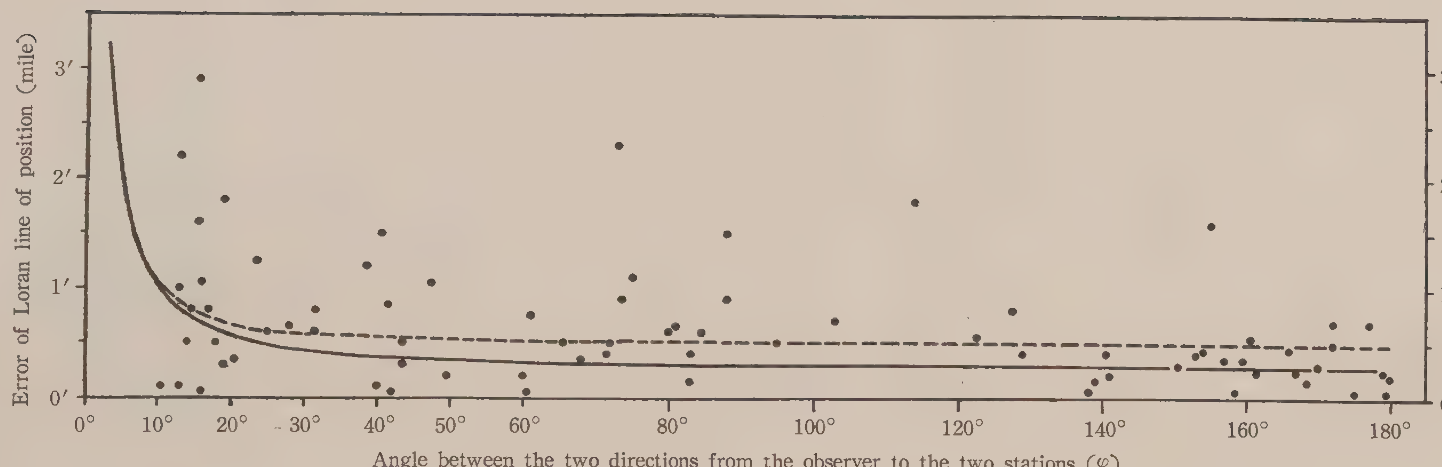


Fig. 1. Observed errors and curve of probable error of Loran lines of position
Solid line: Probable error of Loran lines of position which was obtained by observation
Dashed line: Probable error of Loran lines of position which was estimated from an American literature
● : Observed errors of Loran lines of position

VII 結　　言

この実験は正確を期するため陸測のみにより船位を求め，また地表波を対象として誤差を測定したが，なお船位のドリフト量などいろいろの誤差の介入は免れない。

しかし，以上の測定実験から次のことが得られた。

（1）ロラン位置の線の実測中央誤差を示す実験式は，

$$r=\sqrt{0.0736+0.0073\ \mathrm{cosec}^2\frac{\varphi}{2}}$$

で与えられる。

但し　r＝実測中央誤差

φ＝船位から測つた発信組局間の夾角

（2）時間差測定の中央誤差は 1.05 μsec であつた。

（3）ロランの定誤差的な a の値は小さく 0.0736 であつたが，この測定実験のみではいわゆる Loran system が非常に正確であるとは言えないが，あまり大きな誤差はないと考えられる。

終りにあたり，御教示を賜つた本学部石田正己助教授と同平岩節助教授に深く感謝する次第である。

VIII 文　　献

1）鮫島直人（1953）．ロラン位置の線の精度について．商船大研究報告　4 A，138-140．

2）Pierce, McKenzie & Woodward，(1948)．*Loran. Radiation Laboratory Series*. No. 4. 476 p. New York; McGraw-Hill Book Company, Inc.

3）Benjamin Dutton (1951). *Navigation and Nautical Astronomy*. 850 p. Annapolis; U. S. Naval Inst.

害敵駆除を目的とする水中爆発について

黒　木　敏　郎　・　九　万　田　一　已
(北海道大学水産学部漁具物理学教室)　(鹿児島県水産試験場)

The Effects of Underwater Explosions for the Purpose of Killing Predacious Fishes

Toshiro KUROKI and Kazumi KUMANDA

Abstract

There is a cove in Ushine district at the north end of Tarumizu city in Kyushu (cf. Fig. 1), where the Coastal Fisheries Promotion Association of Kagoshima-Bay projected growing of yellow-tail (*Seriola quinqueradiata*). Because it was necessary that major fishes (common sea-bass, mullet, barracuda etc. as predators) shoud be annihilated before many larval yellow-tail were placed in the closed cove and fed there, underwatar dynamite explosions were planned and carried out in 1960.

In the preliminary tests on Feb. 27th, two charges of 405gr dinamite (N.G. 50%, gelatine dynamite) were set in the middle of this cove and separately exploded through water-tight trains of powder with a time interval of half an hour.

In the operation on Feb. 29th; 46 charges of the same dynamite as preliminary tests were set with ropes and wooden floats at intervals of 15m in 3 rows (distances between one row and next were also 15m). Firstly 27 charges near a dike were exploded simultaneously through electric fuses; secondly 13 charges in the inner-part of cove were set off similarly 25 min. later. Unexploded 6 were removed when the operation was over.

During the time of the test and the operation, underwater pressure was measured by use of new type elements (cf. Fig. 4) at various points; underwater sound was recorded at both the inner-side of the dike and the outer-side. Many injured wild fish in the open and ones in net-baskets for the test were observed anatomically.

The results of measuring, recording and observing are summarized as follows:

a) On the conditions in this cove, underwater pressure P kg/cm^2 which was induced by one charge of dynamite may be expressed by the fomula;

$$P = k \times 10^{-0.126L}$$

(where, L m=distance between measuring point and the center of explosion, k=130 kg/cm^2 in these experiments), and P′ produced by many charges was measured with various deviations from P owing, perhaps, to interferences or conflictions of pressure waves themselves. (cf. Fig. 6 and 7)

b) Recording of underwater sound by microphone pick-ups was done four times.

At the first time in the preliminary tests, pick-up was set underwater outside of the dike. As a result of analyzing and calculating of the record, it was recognized that the maximum peak pressure of sound was about 135 db; the sound consisted of about 80 c/s (small amplitude) waves and 150～200 c/s (large amplitude) ones.

At the second time in the preliminary tests, pick-up was set underwater on the innner side of the dike. This sound was simillar to that of first time, but 3300～3900 c/s waves were superposed upon the sound.

It seemed that the dike reduced the underwater sound pressure (equivalent distance of water layer=1100m), because the max. peak pressure was about 166 db in the second case, and that the dike absorbed high frequency sound waves.

In the main operation, pick-ups were set outside of dike both times. In the first case

(distance between microphone and the center of explosive charges area was about 70m) the peak pressure was 240 db; in the second case (distance was about 180m) the peak pr. was 171 db. These sounds consisted of 150～180 c/s, 300～330 c/s (small amplitude); 170～250 c/s, 300～350 c/s (middle amplitude) and 120～190 c/s (large amplitude) waves, cf. Pl. Ⅲ A～H.

c) Observed injuries to fishes extended from congestion of lateral muscle to exposure of entrails and destruction of operculum. Seriousness of injury depended on the distance from exploding point, but the relation was complex and it seemed, especially, that injuries to fish were serious near the sea-surface.

Break of vertebra or burst of air-bladder happend often at 15m distance from an explosion point and congestion of vertebral artery was observed even at 20m or more distance.

d) In view of the relation "Peak pressure of explosion is directly proportional to the cube root of charged explosive mass", it is more effective for killing fish to use a large number of charges of small mass; and in the case of using 405gr of dynamite (N.G. 50%) in every charge for the purpose of destroying fishes, a large number of chrges must be used and be set at 7～10m or less distances respectively between the separate ones in a closed cove.

I 緒　　　言

1914年の火山大爆発で桜島が陸続化した際に出来た行きづまり部すなわち鹿児島湾の最奥部の入江は垂水市牛根にある。ここに堤防を築いて海水出入可能な（干満利用の）池を作り鹿児島湾沿岸漁業振興協会経営のもとにブリ蓄養が行われている。Fig. 1 並びに PL. I A～C参照。

従来の経験により稚ブリを放養しても池中に大型害魚がいる場合ほとんど哺喰されて蓄養の成果は全く挙げられないことが明らかになつたので，次年度に予定される数万尾の稚ブリ放養に先立つて蓄養池内の大型魚を全滅せしめたいという希望が生じ具体的な計画が立てられるに至つた。1960年2月のことである。

池中の害魚群を駆除するためには，網を以て念入りに魚を捕える方法とか毒薬や電気でこれを殺す方法などが考えられるが，池底は岩礁が多く且海水交換率の悪いこの蓄養池ではこれらの方法はいずれも適

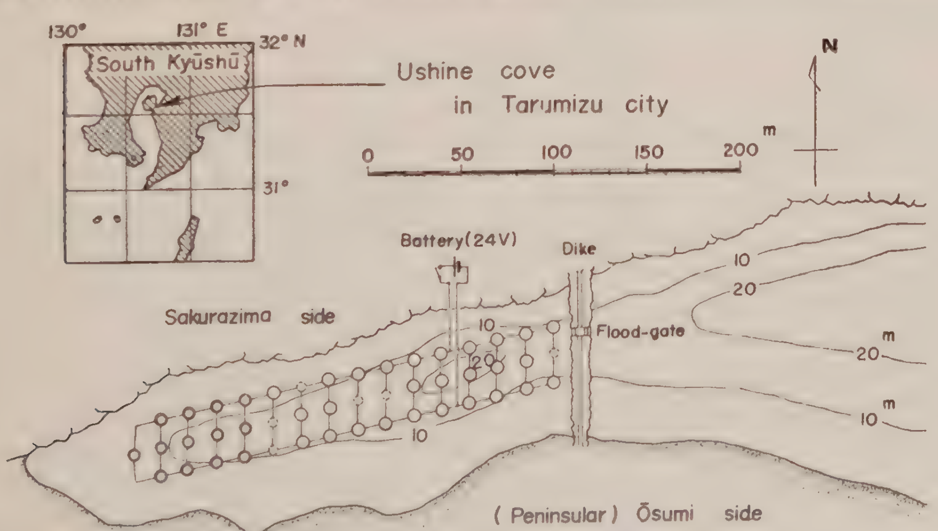


Fig. 1. Map of Ushine cove, showing location of dynamite explosions
Circles: Firstly blasted 27
Dowble circles: Secondarily blasted 13
Broken circles: Lastly treated 6

当でない。そこでダイナマイトの水中爆発を以て一挙に害魚をせん滅する方法が採られることになつた。その工事施工に必要な諸経費は振興協会が負担し水中爆圧の物理的な測定を鹿児島大学水産学部水産工学教室（黒木主班）が行い生物的な効果判定は鹿児島県水産試験場調査部（別府部長指導）が担当した。なお，水中録音はＮＨＫ鹿児島放送局技術部の協力参加を得てなされたものである。

II 試験経過概要

当初電気雷管によらず導火線を用いて爆発させる案が出たので，これを水中で採用する際の悪影響を予想して導火線の水槽内燃焼試験を行い２月18日までに採らないことに決定した。併行して試作受圧測定器の較正実験を行う。２月27日，ダイナマイト爆発効果検討のため単発（導火線使用）予備試験を２回にわたつて実施，測圧・魚体被圧・水中録音などほぼ予想通りの結果を得た。同28日，15m間隔に約50発（各約405gr）の火薬を吊下すべき支綱を張り立てる作業並びに電線結合作業を完了。同29日，最干時14時45分に，電気瞬発雷管をもつて一斉に爆発せしめようとしたが，結線不良の箇所があつたのか電源に近い堰堤側27箇のみが爆発した。そこで入江の奥部へ電源を移して15時15分にスイッチを入れ残りのうち13箇を爆発せしめた。それでも導通不良その他の理由により不発のものが６箇残つたのでこれをまとめて16時40分に最深部で爆発処理しおわつた。この日の前２回（計40箇）の爆発を本文では本試験と称するが，勿論水中爆圧測定・魚体被圧状況観察・水中音記録等の重点はこれに置かれたのである。当日爆発終了直後の潜水観察は底部の濁りが甚しく視界１ｍの狭さであつたし間もなく夕暗ともなつたので，漁獲３箱の集収にとどめ，翌３月１日改めて潜水により害魚死滅状況を観察した。以上の概況を写真（PL. Ｉ D〜H）に示す。被爆により海面に浮かんだ魚は殆ど小型（10数cm 以下，特に扁平型）のものが多くて，大型魚の大部分は海底に沈み，爆発で舞い上つた底泥を被つて横たわつているものが多かつた。なお，収獲魚は７箱に及んだが，一斉爆発にならなかつたことと充分な爆圧の行きわたり得ない水域があつたことなどの理由により若干の親魚が生き残る結果となつた。しかしこれは泥を被つて発見されずに残された死魚や小さな浮死魚の掃除役となり結局１カ月の後にこれら生残魚も毒入りの餌で全く駆除されたものである。

III 各試験の詳細と結果の検討

1 導火線試験

火薬取扱いの責任者が処理の容易さと安全さとの観点から導火線による多点爆発を提案した。広い蓄養場内でこれを行う場合始発と終発とでは数分乃至10分の時刻差が生ずることになり（時刻差を少くしようとすれば導火線の長さの選択に困難を生ずることとなり）多点式爆発となつても魚群移動その他の理由より見て良策ではないと思われた。特に導火線より泡が出たり硫黄化合物その他可溶性無機物が浸出したりすると慮外の現象を生ずるおそれがある。そこで導火線の燃え進みの速度測定を兼ねて水中での燃焼状態を観察する試験を行つた。供試品*）を30，50，100cmの３種の長さに切り，末端をセメダインで密封したものとしないものとの両方につき空中と水中（水深約50〜60cm）とで燃焼させて比較した。

空気中では末端を閉じたものと閉じないものとで殆ど差がなくその燃焼速度は平均 0.43 m/min であつたが，水中での燃焼速度はやや早くなり端を閉じたもので 0.45m/min，閉じないままで 0.46m/min という測定値を得た。（Fig. 2 参照）水中では速度が5〜7％増大することになるから実用上注意を要する。

水中での燃焼状況は写真（PL. II A，B）に示すように，燃焼済みの部分の線肌から直径１ｍｍ内外の小泡が無数に立昇り肌の色が白色から黄緑または黄褐色に変ずる。点火した方の端を水中に投入した場合この端口から３〜５ｍｍの泡が不規則に沢山出る。これらの泡は水面で泡の群となつたり箇別に破れたり

* 帝国火工品製造株式会社（植木工場）製，第二種導火線。これは学術研究用として鹿児島市田中銃砲店より必要量を提供して頂いたものである。御厚意に対して謝意を表する次第である。

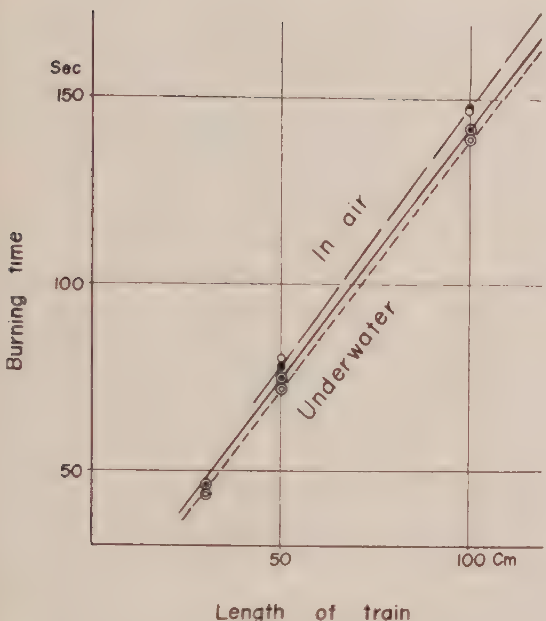


Fig. 2. Combustion velocity in trains of powder
Single circles: in air (mean value 0.43 m/min)
Double circles: underwater — Black dowble: Closed end (0.45 m/min); White dowble: Open end (0.46 m/min)

して燃焼ガスの煙（黄白色）を立て火薬臭を発する。このような現象は魚群に聴覚的・味覚または嗅覚的な刺戟を与えるであろうし，そのために魚を平常状態外に追いやるであろうから，結果としては導火線による水中多点爆発法を採用しないことに決めたのである。

2　水中測圧試験

2.1 圧力測定器とその検定試験

圧力の測定には色々な方法があるけれども爆発圧力を測るのには繰返爆圧（内燃機関等）にダイヤフラム変位方式を用いることのほか大低は金属変形方式が採用されるようである。空中の爆発（気体）圧力を測るのに鉛板の組織変形を活用することは最もよく行われるが，深い水中での圧力測定ともなれば静圧も混入して較正が甚だ困難となるおそれを生ずる。振動圧力が加わる時には受圧部の慣性力その他も考慮されねばならないから 10^{-4}sec 程度の短周期受圧の時には薄板式を採用せざるを得ないであろうが，この場合水中爆発の減衰振動の周期は 10^{-1}〜10^{-2}sec 程度と予想された[1)]ので製作個数の多さや経費の問題も考えて，円錐頂の鋼片で鉛面を押圧させその鉛片の凹部の径を測ることによつて受圧力を測るという方式を採用した。あらかじめ銅片と鉛片との両種を選び円錐頂 47°×2 の鋼棒尖端を以て色々の力で押しつけた時の凹部を実物幻灯器で拡大して測定した結果Fig. 3 に示すような結果を得て，この場合荷重が凹径の2.3 乗に比例することを知つた。

Fig. 4 に試作した測圧器の断面を示す。60°×2の頂角をもつ鋼製受圧片Aは，厚さ4 mmの鉛円板Bの面にその頂点を接触するような姿勢で本体C（鉄製）の前部円筒孔に収められ，薄いビニール膜で包み込まれている。本体Cの右半下部には適当な空洞Eが作られ，その蓋Fには径1 mmの小孔が開けてあるから，本器を水中に入れるとこの孔から海水が浸入しはじめ空洞E内の空気は外圧と平衡するまで圧搾される。受圧片Aを収めた部分へもこの空洞から空気通路Dが通じているのでその圧力の空気はビニール膜Gを受圧片側からも圧して内外の圧力は平衡し，円錐頂は鉛面に接触しているだけの状態である。爆発圧力で受圧片A[illegible]1 cm²)，[illegible]円錐頂[illegible]鉛円板Bの左面に凹みを作るわけである。

この受圧片に 1 〜150kg/cm²の圧力をかけて実際の円板面に凹孔を生ぜしめた結果を PL. Ⅱ C に示す。Fig. 5 には凹部の直径（2点ずつあるのは長径と短径）と 10sec 間かけた圧力との関係を示したもので両対数図表上で直線となり圧力は凹径の2.05乗に比例することを知る。また同図に重ねて黒点を含むほぼ水平な直線で示されているのは圧力を 50 kg/cm² 一定とした時の凹部の直径と加圧時間との関係である。後述のように水中爆圧のピーク時間幅は 10^{-2}sec 程度であるから凹径の大きさから爆圧を計算

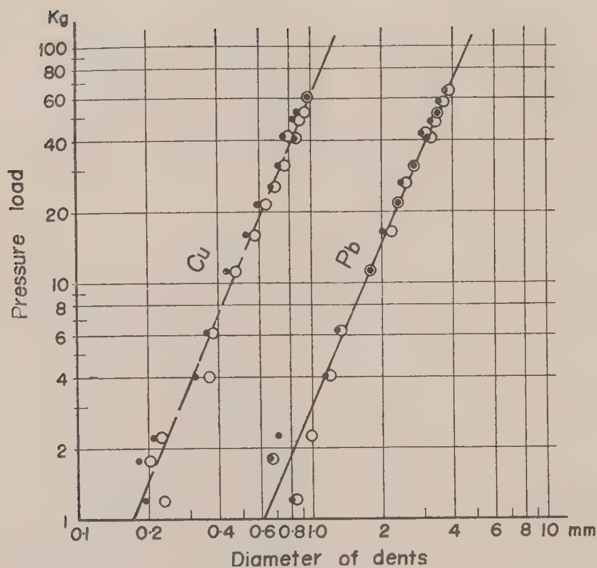


Fig. 3. Relations between pressure load and diameter of dent
(With cone angle: 47°× 2)
Cu: 62× $d^{2.3}$, Pb: 3.1× $d^{2.3}$ (kg)

するのにはこの関係を以て修正を施さねばならない。慣性力補正もこの修正値の中に含まれるものと考える。

さてこのような測圧器を数十個作り，爆心から色々の距離に紐で吊して置くわけである。以下予備実験と本試験とに区分して測圧結果を述べよう。

2.2 予備実験単爆発測圧結果

2月27日，蓄養池のほぼ中央（海深約10m）の辺で爆薬の吊下される水深が6mとなるように仕掛けて前後2回爆発せしめた。各回の薬量は約 405 gr（1包み45grの爆薬9箇を合して1発分に固めたもの）である。使用した爆薬はサクラダイナマイト（耐水性，ゼラチン状，ニトログリセリン 48〜52％，爆燃速度 5.5〜6.5 km/s）で，簡便のため導火線によつて点火した。

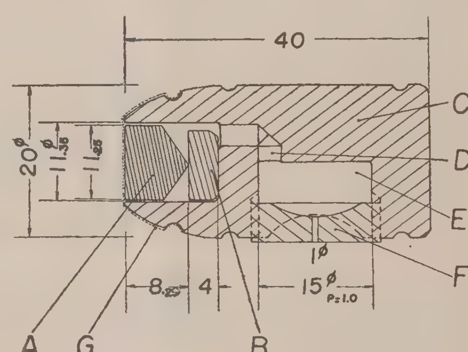


Fig. 4. Measuring instrument of underwater explosive pressure
A: Cone piece against pressure (steel)
B: Piece to be dented (lead)
C: Case body (iron)
D: Air path (dia. 3 mm)
E: Pressure regulating hollow
F: Hollow cap with pinhole
G: Thin cover (vinyl membrane)

測圧器の敷設箇所としては，第1回目では爆心と等深線上に水平距離 4 m，5 m，7.5m，10mの4距離を採り，第2回目では爆心から水平に 2.1m離れた所で水面より0.2m，2.5m，5 m，10mという水深に置いた。後の場合実際の直線距離は爆心からそれぞれ5.7m，3.6m，2.1m，4.9mとなつた訳である。

測圧結果は Fig. 6 のように示される（白丸印第1回目，黒丸印第2回目）。爆心からの距離 L mなる点での爆圧を P kg/cm²とすれば，

$$P=130\times10^{-0.126L}$$

という関係があることになる。爆薬の中心近くまでこの関係式が成立するものとすれば，$L=0$ のときつまり爆発の中心では有効最高圧力が約130kg/cm²と推定される。*)

* Hubbs等（1952）が Scrips Submarine Canyon で測定した実験では，L と P との両軸対数目盛で直線になるとして $P=k'\times L^{-2.6}$ を与えている。つまり，爆圧は爆心からの距離の2.6乗に反比例するというのである。我々の実験値でも両対数目盛で直線をなすものとして（距離大の点で外ずれるけれどもこれを除外して）考えた場合 $P=k'\times L^{-1.8}$ 程度とあらわされ，この値は従来言われていた実験式 $P=k'\times L^{-1.15}$〔但し，広い海洋で〕との中間にあることを知る。[1)2)]

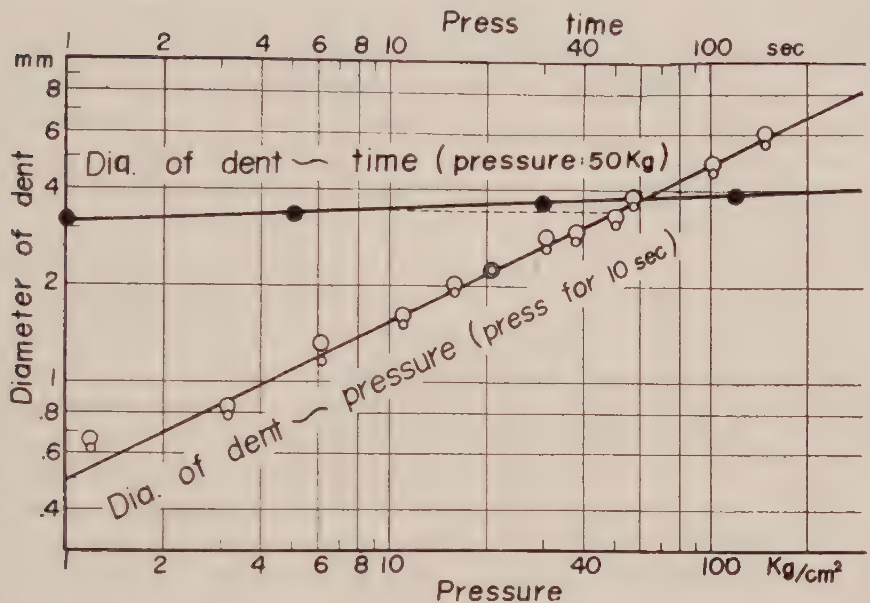


Fig. 5. Relations between diameter of dent and pressure, press time
(With cone angle: 60°× 2)
Correction time at the explosive pressure $=10^{-3}$ sec

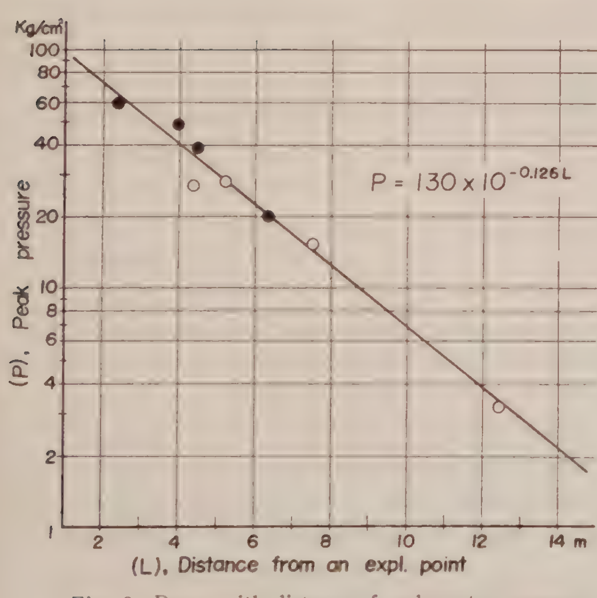


Fig. 6. Decay with distance of underwater pressure by one charge of 50% gelatine dynamite 405 gr
Black circle: On a vertical line (second expl. in the preliminary test)
White circle: On an equidepth line (first explosion in the one)

2.3 本試験多爆発測圧結果

2月29日，50発に近い爆薬を一斉に爆発させるために，電気瞬発雷管を準備した。Fig. 1に示すように入江縦長に沿つて間隔15mに3列のロープを張り中央のものは単なる吊下用に使用したが岸側（大隅半島側）と熔岸側（桜島側）との2列は電源48V（8V×6ケ）からの直列結線用電纜支持にも利用した。爆薬は上述サクラダイナマイト約405gr（45gr×9ケ±1ケ）を使用した。装備個数が多いので結線作業中に爆薬が水に溶けたり雷管附近に浸水が生じたりすることを慮かり，6cm×10cmの楕円体状に固めたものを防水用ポリエチレン袋に包み，これを3列のロープ上に15m間隔16行に配つて，その点の水深の2/3の深さに吊下した。最奥の行は中央列1点のみであるから爆点は46となり中央列の16点は並列結線による点火となる。また水深が大であつたり岸までが遠くて魚群のひそむ場

所の多い所であつたりした点には2ヶの爆薬を1点に同時装着して効果の確実を期した。

このような配置では2点以上の爆圧を測ることになるので慎重に7爆心点を選び，水平方向6本と垂直方向5本と合計11本の測圧線を設定した。爆心よりの距離は予備実験の場合と同様である。すなわち基準爆心より水平方向には4，5，7.5，10，15m（堰堤外に及ぶ線上では20m，30mを含む）とし，垂直方向には水面から0.2，2.5，5，10mと測圧器を吊下したのであるから，他の爆心からの距離は幾何学的に計算で求められる。測圧器52ヶを海中に吊下設定したけれども紐の切断等の理由によつて実際に回収されたものはそのうちの44ヶであつた。

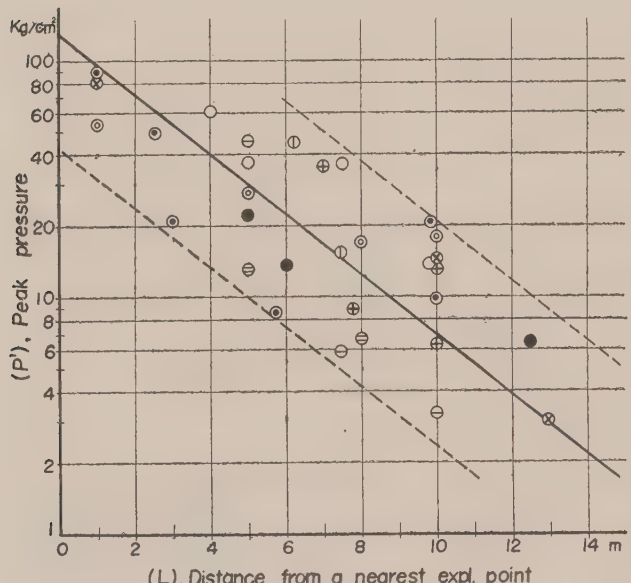


Fig. 7. Deviation of peak pressure from $P=130\times10^{-0.126L}$, in measuring of explosions by 27 charges Every charges were arranged at 15 m distances each other.

それぞれの測圧器に最も近い爆心（基準）からの距離を横軸にとつて，較正された爆圧を画いたのがFig. 7である。見るように測圧結果は相当に乱れている。各爆心は15m間隔平方に配置されているのであるから，多点一斉爆発の場合には最も近いものからの影響のみならず他の2ヶ以上の爆心からの影響を重畳されるであろうことは当然予想されたのであるが，加圧作用のみならず減圧の測定結果の得られたことは興味深い。選ばれた7爆心のうち3点は前述2倍量の爆薬を仕掛けた点であるが，これを基準点として設けられた測定線上のものが必ずしも2倍圧を示さず，減圧とすら見られる測定値を示した。Fig. 7 に太い実線を以て示された斜線は Fig. 6 に得られた単発の場合の距離〜爆圧関係であつて，これに平行な上下2本の点線はそれぞれ単発の3倍量と1/3量とに相当する線である。実験測圧点が殆どこの両点線内にplotされたということは，このような爆薬装備の仕方では遠近複数の爆心からの爆圧重畳や干渉があつたとしても，単発の爆圧の3倍を超えずまた1/3以下になることもない，という結果を示すものである。

もし，Hubbs等[1]の言うように魚の死が爆圧2.8kg/cm² で始まり5.5kg/cm² で殆ど魚は死ぬというものならば，本試験のやり方では爆心から9.5〜14.5m程度で死ぬ魚が生じ，7m以内の魚は殆ど致死するということが考えられる。（被圧の傷害程度は後章に述べる。）この場合，底深7〜20mの海中で水面からほぼ5〜15mの深さに爆薬を15m間隔方形に吊下して置いたのであるから，最も近い爆心から測つても11.7m距つた点が海底に生ずることになる。従つて魚が必ずしも致死しない帯域もあつた訳ではある。

電気点火の結果，堰堤に近い27点がまず斉爆した。上記の測圧結果は爾後の爆圧により測定値に混迷を生ぜしめないため，この第1回目の爆発の直後に測圧器を回収し，後日検討して得られたものである。電源を入江の奥に移し，母線も結び替えて第2回目は8Vで点火せしめたところ13点が爆発した。

第1回目から約30分を経過している。更に未発のもの6点が残つたのであるから，大型魚を全滅したいという目的に対しては，時間的にも空間的にも完璧を期し得なかつたものであるが，野外実験の粗放さの中でこのような資料が蓄積されて行くことこそ重要な進み方であると信じ，敢えて実状を本節に追記する次第である。

3　水中音とその解析

音圧としては前述の如く最高圧の形として受圧片でこれを捕捉したけれども，爆発は単発の場合でも海表面や海底，岸などで反射して余韻のある音として聞こえるであろう。そこでマイクを水中に入れてこれを録音しようと試みた。* 使用された水中マイクは沖電気K.K.製T-18型，感度 102.8 db（容量12900 pF）のもので，録音再生機はＰＴ-14Ｓ型（入出力インピーダンス共に600Ω），入力レベル－72db mic，出力レベル－22dbを使用した。以後再録したりブラウン管オッシログラフに掛ける際には入出力レベルを検定しつつ行つた。文中の音圧表示はその最終的計算結果のみで示す。

前節測圧試験の項でも述べたように，爆発は予備実験として単発2回，本試験として多発2回を行つたので，その4回の分につき 1/10 sec または 1/100 sec の掃引時間で撮影したオッシロによる音波形の数例を PL. Ⅲ A～Hに示す。これらを解析検討した結果から次のようなことがまとめられる。

3.1 予備実験（単爆発）の場合

第1回目の場合爆心（単発，薬量405 gr）が蓄養池のほぼ中央にあるのに対して水中マイクはそれから160m離れた堰堤外において録音した。計算によれば最高圧は 135 db となり振幅の小さい波動は80 c/s程度，大振幅のものは150～200c/s程度の音として伝わつて来ている。幾つかのピークの現われる時間々隔が水中音速を 1500 m/s とした時に 7.5～17m 相当に示されていることから判断すると水深方向（海面と海底と）での反響音も含まれて到来したものと思われる。

第2回目では爆心条件は第1回と同様であるが，水中マイクを堰堤の内側(爆心の側)に置いている。この時の最高音圧値は 166 db と示され，前回との差は約 31 db であつて爆心からの距離（150m）から推定すると堰堤による遮圧効果はこの海域で1100m の距離だけ距てたのと等価になる。前回の音波形と異なる点は3300～3900c/sの高い周波数の音が重畳していることであつて，これは両岸の熔岩その他の反響音が直接音の大きな大振幅波形に乗つたものであると思われる。なお大振幅の波間の時間々隔を距離に換算すると約114mとなるので，これは爆心からの直接音と奥の方へ行つた音のはね返り音との時隔であると推定される。また，前回と同じく大振幅と中振幅との時間々隔 12m 相当というような水深反響間隔も見受けられた。

3.2 本試験（多爆発）の場合

この場合には使用する録音の数が多いのでマイク設備を簡素にして2回とも堰堤の外側に置いて録音した。第1回目は堰堤に近い方で27点の同時爆発をさせ音圧は最大を示し約240dbと計算された。第2回目は堰堤より遠い方（奥側）で13点爆発させたがその時の音圧は最大171dbであつた。各回の爆発点の置かれた帯域のほぼ中心から水中マイクまでの距離はそれぞれ約 70m，180m，である。波形は区々でなかなかまとめ難いがいずれの場合を通じて大振幅の音波では 120～190c/s が多く中振幅では 170～250c/s と 300～350c/s，小振幅では 150～180c/s と 300～330c/s というような周波数が見られる。

すべての録音を同一条件に統一して再生せしめこれを聞いた時の感じを形容すれば，予備(単発)実験第2回目で唐紙を破るようなパリパリッといつた音に聞えることのほか，その第1回目も本試験(多発)の両回と

---

* 鹿大水産工学教室でもクリスタル・マイクを水中用に改良したものを用いて2ヶ所で別々に録音したが，マイク～増幅～録音系の増幅度について疑義を生じたので，録音テープによる波形撮影はもっぱらＮＨＫ技術部の協力を得て採取した水中音のみを撮影解析の対象として取扱つた。鹿児島放送局の高橋技師並びに御協力頂いた各位に対し深甚の謝意を表する。

も共に厚板または厚い鉄板を叩くような音である。どの場合でも2回に分れて（例えばドンドコンというふうに）聞こえることは，水中音が直接波と池奥からの反射波とに大別されて水中マイクへ到来したためと考えられる。前述予備実験第1回目（単爆発を堰堤外で pick-up した場合）の 135db という音圧値は，空中の人間の耳の感じに引き直すと極く近い大雷鳴（130db といわれる）程度の筈であつて，これを使いなれた圧力単位で示せば僅かに約 0.001 気圧に過ぎない。これから考えると本試験第1回目（多爆発を堰堤外で pick-up したが，平均距離は 70m であつた）の場合の音圧値 240 db 200 気圧という値は如何に強大な音圧であるか想像に余るものがあろう。それにしても，この 240 db（200 気圧）という値は，測圧試験の項で述べた爆心圧力（薬量 405 gr，単発）の 130 kg/cm^2（約236 db）に近い値であり，距離や発数（薬量）を勘案する時，試作測圧器による実測値と録音波形の解析計算から求めた値とが殆ど等しいことを示すものであつて両方の測定や計算が正しいことを裏づけるものであると言わねばならない。

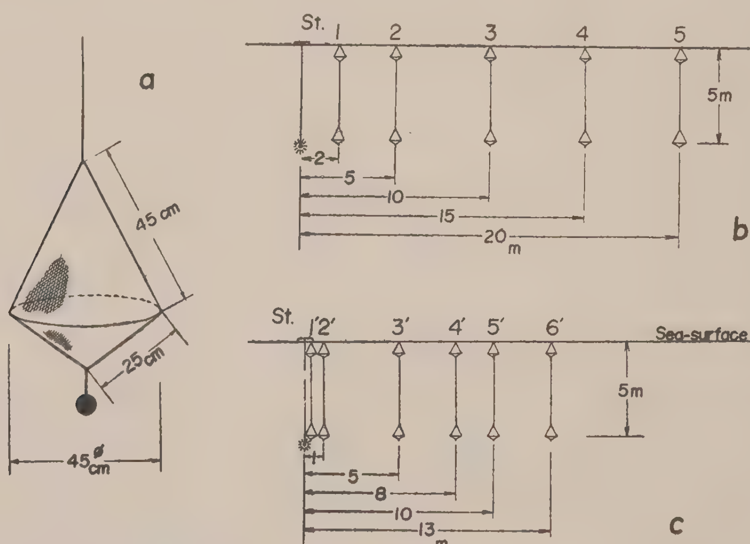


Fig. 8. Net-basket used
a : Shape and size of net-basket
b : Arrangement of net-baskets in the preliminary test explosions (Feb. 27)
c : Arrangement of net-baskets in the operation (Feb. 29)

4 魚体の被圧状況

物理的な測定と併行して魚類の受ける被圧損傷の程度がどのようになるかを観察するために Fig. 8a に示すような網かごを準備した。

予備実験ではこの網かごを Fig. 8b のように爆心から 2，5，10，15，20mの距離にそれぞれ水面附近と水深 5 mの所に2ケずつ吊下した。これらの5点をそれぞれ St. 1，2，3，4，5と名づける。

本試験においては岸側（大隅半島側）の列の堰堤に最も近い爆心を選び，Fig. 8c のように距離 0.2，1，5，8，10，13mの点（これをそれぞれ St. 1′，2′，3′，4′，5′，6′と名づける）に前と同じく水面附近と5 m水深層とにそれぞれ2ケずつの網かごを吊した。

爆発後予備実験では 10 min. 後に，本試験では 50 min. 後に網かごを採り上げそれぞれの中の実験魚を観察し，網かご外の魚も捕集して調査の参考にした。魚体の損傷については外観的観察と簡単な解剖肉眼

的観察とを行つたのであるが，網かごに封じた実験観察用の魚は，体長95〜165mmのマアジ（*Trachrus japonicus* Temminck & Schlegel）97尾と体長51〜70mmのクロホシイシモチ（*Apogon notatus* Houttuyn）13尾と合計110尾にのぼる数である。観察結果の詳細を Table 1 and 2 に掲げる。

4.1 予備実験の場合

a）損傷の状況

大損傷はクロホシイシモチで鰓蓋損傷・内臓露出がそれぞれ2例みられた。これらの鰓蓋は殆ど両側ともはずれており，内臓は食道・胃だけを残して他の臓器は認められなかつた。

外傷・皮下損傷では鰓蓋損傷が7例で最も多く，次いで体側筋肉損傷・胸鰭・眼球の溢血等がみられた。鰓蓋は後半部が脱落しており，体側筋肉損傷は胸鰭の前方上部が削り落されたようになつていた。（魚体番号1〜5，19）

内臓器官損傷では脊椎動脈溢血が32例で最も多く，次いで体側筋肉溢血25例，鰾組織断裂21例のほか腎臓損傷・鰾血管充血等が多くみられた。脊椎損傷はマアジでは殆んど鰾後方の上部にあたる第8椎骨と第9椎骨がはずれていた。肋骨の骨折は主として第2〜第6肋骨の鰾の側面にあたる部分にみられた。脊椎動脈溢血は著しいものでは尾椎末端にまで至るもので，周辺の筋肉にはつきりとその溢血が認められ，溢血が尾椎末端にまで至らないものでは間血管棘 Interhaemal spine が脊椎骨と交叉する附近で特に著しくみられた。体腔側筋肉断裂は鰾組織が断裂し，肋骨の折れた魚体にみられやすく，従つて肋骨の折れた部分の筋肉断裂となつて認められることが多い。体腔側筋肉溢血は主に体腔後部の側筋に認められ，間血管棘の受けた衝撃によつて惹き起されるものではないかと思われる。腎臓・胆嚢の損傷は，組織の一部崩壊，或は溢血斑となつてあらわれていたが，これらも鰾組織の断裂と併行してあらわれやすい。なお，肉眼的観察によつて胃・腸・肝臓等にその異常を見出すことはやや困難であつた。

b）定点による被害程度の相異

〔St. 1〕の表層，5m層でも大損傷という程のものはみられない。5m層では外傷は全然みとめられないのに対し，表層ではすべてのものが鰓蓋・胸鰭・体側筋肉の損傷をうけている。内臓器官でも表層のすべてのものが肋骨・腎臓・胆嚢・鰾組織断裂・脊椎動脈溢血・体腔側筋肉断裂等の損傷をうけ脊椎損傷も1例みられた。5m層ですべての魚体にみられる損傷は鰾組織断裂だけで他の損傷は1〜2例ずつあらわれていた。

〔St. 2〕は St. 1 に比べ被害はやや小さくなつている。ここでも表層の方が被害は大きく，マアジの損傷としては鰾組織断裂が多く，肋骨の骨折・腎臓・鰾血管充血・脊椎動脈溢血等が1〜3例ずつ認められた。5m層では鰾組織断裂は1例だけであるが脊椎動脈・体筋肉溢血などがやや増えているほか腎臓損傷・鰾血管充血がみられた。クロホシイシモチでは表層で鰓蓋・内臓露出等の大損傷のほかに外傷もみられ，すべての魚体に脊椎・肋骨の骨折・腎臓損傷・鰾組織断裂等がみられこれはマアジより大きな被害を受けている。5m層では鰾断裂・血管充血1例だけで表層に比べて被害は小さくなつている。

〔St. 3〕になれば外傷は表層のクロホシイシモチ1例だけ（魚体番号32）で他は外部的に何ら異常を認めない。マアジでは腎臓損傷・鰾血管充血・動脈溢血・体筋肉断裂溢血等がみられ，動脈溢血と体筋肉損傷は5m層の方が大きくあらわれている。クロホシイシモチでは表層で鰓蓋損傷，5m層で肋骨の骨折・鰾組織断裂等がみられた。

〔St. 4〕では外部的に全然異常を認めず，表層ではすべてのものに動脈溢血がみられたほかは，鰾血管充血・体腔側筋肉溢血が1例ずつあつた。5m層で鰾組織断裂1例，動脈溢血その他が1〜2例ずつみられた。

〔St. 5〕も外部異常認めず，表層，5m層ともに同じ程度の被害がみられ，鰾血管充血・動脈溢血・体筋肉溢血が2〜4例ずつであつた。

魚体番号別に生死の判定をすることができなかつたが，爆発後，完全に斃死していたものは St. 1 では全部，St. 2 では表層で3尾，5m層で2尾，St. 3 では表層で4尾，5m層で0尾，St. 4 では表層で0尾，5m層で1尾，St. 5 は上下層とも0尾で，他はやや苦悶している程度であつた。

4.2 本試験の場合

a）損傷の状況 予備実験とほぼ同様であつた。

b）定点による被害程度の相異

予備実験の場合と同じく表層の方が5m層より被害の大きいことが多かつた。

〔St. 1′ 2′〕の表層においては外傷がみられるが，5m層とSt. 3′ 以遠の定点では外部損傷は全然認められない。大損傷としては St. 1′ の表層でクロホシイシモチに1例だけあつた。また，〔St. 1′ 2′〕ではすべての魚体に鰓組織断裂，腎臓損傷がみられたほか脊椎・肋骨骨折・胆嚢損傷・動脈溢血・体筋肉溢血等が多くみられた。〔St. 4′〕までは鰓組織の断裂もみられたが，〔St. 1′ 2′〕に比べると著しく少なくなつて鰓血管充血・脊椎動脈溢血等の損傷が増加している。

本試験の魚は爆発後，約50分にとりあげたが全部斃死していた。

なお本試験終了後・苦悶して池の表層を泳いでいたボラ・アイゴ・クロサギを採捕して解剖した結果，外傷は全然認めず鰓断裂・腎臓胆嚢損傷・動脈溢血が認められた。

以上の観察結果を要約すると

i）爆心から10〜15m位の距離にある定点では表層の方が爆心からの実際距離は長いにも拘らず被害の大きい場合が多い。

ii）アマアジでは極く近距離でも 405gr 位の爆薬量では大損傷は認められず，小型のクロホシイシモチで僅か内臓露出と鰓蓋損傷が認められた。

iii）外傷は極く近距離のもので，しかも表層に位置していたものだけにあらわれ，他は外部的に全然異常を認め得ない。外傷の種類としては鰓蓋，胸鰭，体側筋肉損傷がみられた。

iv）鰓断裂の魚体では肋骨の骨折，動脈溢血，体筋肉断裂，腎臓・胆嚢などの損傷が平行して認められやすく，鰓断裂は爆心からの距離15m位までにみられることもあるが，就中7m位までのものに多い。

v）鰓断裂のみられない魚体では血管充血と体腔側筋肉溢血がみられやすい。

vi）脊椎動脈溢血は最も多くあらわれる損傷で，20mのところに置いてあつた魚体にも認められた。

IV 結　　言

広い海洋に比べると奥行250m幅100m水深20mといつた蓄養池はまことに狭いものであろうが，この中に約50点総計火薬量23kgの爆点を設けこれを一挙に破裂させるという計画は，危険防止の面からも効果確保の面からも甚だ実施困難な点が多く，関係者に肉体的なかつ精神的な負担を大きく課したものであつた。

本試験で一斉点火ならず2回に分離した多点爆発を行わざるを得ない結果にはなつたけれども，まず予備実験でほぼ所期の成果を得て本試験に入り大きな誤りや致命的な事故も生ぜずに大体の目的を達し得たとみてよいであろう。これは計画立案施行の主脳者各位や当日協力して下さつた100名に近い人々の努力のおかげであると筆者等は心からありがたく思つている。本報告での資料の整理方法や成果検討の仕方には粗硬な点や至らない面が多々見出されるであろうが，それらについては今後の諸賢の御叱正にまつこととして，わが国にはこの種の研究[3)4)5)]や試験報告が非常に少ないので敢えてここに発表するものである。

この全作業を通じ立案計画から実施まで御指導御協力下さつた鹿児島県当局特に同県水産試験場の西田場長・別府調査部長をはじめ又木技師その他の各位並びに鹿児島湾沿岸漁業振興協会中村理事・地元関係者・火薬取扱責任者河野氏，更に録音や測圧に終始協力して頂いた鹿児島大学水産工学教室中山・有田両氏，撮影や，爆発監視に尽力して下さつた同大学奈良迫・江波両助教授・練習船しろやま丸高橋船長以下乗組員各

Table 1. The result of dissection (after two explosion

Experimental station no.	1					1						2								2				
Depth of experimental net-basket	0 m					5 m						0 m								5 m				
Distance from exploding point	5.38m					2 m						7.06m								5 m				
Species of fish A: *Trachrus japonicus* B: *Apogon notatus*	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	B	B	A	A	A	A	A
Body length (cm)	11.2	13.7	11.0	12.2	10.6	14.2	11.5	11.2	10.8	10.8	5.7	13.5	14.7	11.7	11.5	12.3	6.8	5.3	5.6	14.7	13.1	14.5	10.0	9.8
Body weight (gr)	10.5	18.5	10.5	12.0	10.5	27.0	11.0	11.5	9.0	8.5	2.0	18.5	26.5	10.5	9.8	10.2	3.5	2.5	2.5	24.5	19.0	25.0	8.0	6.5
Number of fish	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Serious injury: Injury of eye ball																								
Injury of mandible																								
Injury of operculum																	+		+					
Injury of head																								
Winding of abdomen																								
Exposure of entrails																	+		+					
Wound. Subcutaneous injury: Congestion of eye ball	+															+								
Congestion of proboscis																								
Congestion of cranium																								
Injury of operculum	+	+	+	+	+													+						
Injury or congestion of dorsal fin																								
Injury or congestion of pectoral fin	+	+	+	+	+																			
Injury or congestion of other fin																								
Injury of lateral muscle	+	+	+	+	+																			
Injuly of entrails organ: Break of vertebra			+														+	+	+					
Break of rib	+	+	+	+	+	+	+				+		+				+	+	+					
Stomach																								
Intestine																								
Livever																								
Kidney	+	+	+	+	+		+	+		+		+	+			+	+	+	+			+	+	
Gall-bladder	+	+	+	+	+		+					+	+	?			+							
Congestion of air-bladder																					+	+		
Explosion of air-bladder	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+				+	
Congestion of vertebra artery	+	+	+	+	+	+				+		+	+				+			+	+	+		
Injury of lateral muscle	+	+	+	+	+	+		+					+											
Congestion of lateral muscle						+						+								+	+	+	+	

in the preliminary tests on Feb. 27, 1960

	3						3					4					4				5					5				
	0 m						5 m					0 m					5 m				0 m					5 m				
	11.2m						10m					15.8m					15m				2.6m					20m				
B	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
5.3	11.5	11.3	12.5	11.8	12.0	5.7	14.0	11.7	13.0	11.8	6.6	13.0	10.8	11.2	9.9	6.1	12.8	13.4	13.4	12.8	12.0	13.5	13.0	11.2	11.2	12.0	11.5	12.6	11.5	12.5
3.0	10.0	10.5	15.0	12.0	11.5	1.5	20.5	12.5	14.5	11.0	4.0	16.5	9.5	8.0	5.0	1.9	13.5	14.2	14.0	16.0	11.5	15.5	16.0	11.0	9.5	13.0	13.0	16.0	11.0	14.5
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56
						+																								
											+																			
			+														+													
																	+													
			+	+	+		+?	+		+?			+									+	+			+		+		+
+											+						+													
			+			+	+	+	+	+		+	+	+	+	+			+		+	+	+			+	+	+		+
						+			+	+																				
		+	+	+			+	+	+	+	+	+							+	+		+	+	+		+	+	+		+

Table 2. The result of dissection (after two explosions of firstly 27

Experimental station no.		1′					1′						2′					2′					3′	
Depth of experimental net basket		0 m					5 m						0 m					5 m					0 m	
Distance from nearest explosion		5 m					0.3m						5.1m					1 m					7.06	
Species of fish A: *Trachrus japonicus* B: *Apogon notatus*		A	A	A	A	B	A	A	A	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Body length (cm)		13.0	12.9	14.0	12.5	5.1	16.0	13.5	12.3	12.1	5.8	6.4	15.0	14.1	14.1	13.2	11.2	13.5	14.0	12.3	12.8	11.1	13.5	14.5
Body weight (gr)		16.5	14.0	18.0	13.5	0.8	24.0	15.0	13.5	13.2	3.9	3.8	22.0	20.5	19.5	18.5	8.5	17.5	22.5	12.1	12.0	8.0	17.5	23.0
Number of fish		57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
Serious injury	Injury of eye ball																							
	Injury of mandible																							
	Injury of operculum																							
	Injury of head																							
	[illegible] of abdomen																							
	Exposure of entrails																							
Wound, subcutaneous in[illegible]	Congestion of eye ball																							
	Congestion of [illegible]																							
	Congestion of [illegible]																							
	Injury of operculum		+																					
	Injury or congestion of dorsal fin																							
	Injury or congestion of pectoral fin																							
	Injury or congestion of [illegible] fin																							
	Injury of lateral muscle																							
	Bleed of [illegible]																							
	Bleed of [illegible]																				+	+	+	
Injury of internal organs	Stomach																							
	Intestine																							
	Liver																							
	[illegible]	+															+					+	+	
	Gall bladder															+	+				+		+	
	Contraction of air bladder																							
	Expansion of air bladder																	+	+	+	+	+	+	
	Congestion of [illegible]												+	?	?	?		+		+				+
	Injury of lateral muscle													+			+	+				+		
	Congestion of lateral muscle															+	+	+		+		+		+

※ Free fish injured. C: *M[illegible]*
D: *T[illegible]*
E: *D[illegible]*

…s and secondarily 13 charges) in the operation on Feb. 29, 1960

	3′				4′				5′						5′						6′				6′					※		
	5 m				5 m				0 m						5 m						0 m				5 m							
	5 m				8 m				11.2m						10m						13.9m				13m							
B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	C	D	E
.3	12.5	15.0	11.7	10.8	12.7	12.8	9.5	9.1	10.5	12.6	12.8	10.6	11.6	7.0	14.0	14.2	9.9	11.6	10.5	10.5	12.3	12.2	11.8	11.6	13.4	11.6	11.2	11.1	11.6	35.0		
.0	16.5	25.5	11.0	7.5	11.5	14.0	6.0	5.0	9.5	13.5	14.0	6.5	8.5		19.0	19.5	8.0	8.5	7.0	5.8	12.0	14.0	10.5	10.0	18.0	11.8	12.0	8.0	9.0	45.0		
31	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113
	+			+																												
																														+	+	+
				+		+					+	+		+							+	+		+							+	+
																+						+?	+	+?								
			+						+	+	+	+	+		+?					+?						+		+				
		+		+	+																									+	+	+
	+	+			+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+			+		
	+	+													+		+	+														

位，水中録音に心から御協を頂いたＮＨＫ関係者，最後に音波形撮影に努力して下さつた北大水産学部佐藤助教授・同漁具物理学教室の加藤教室員，以上の皆さんに対して本論を結ぶに当り深甚の謝意を表する次第である。

文　　献

1) Hubbs, C.L. & Rechnitzer, A.B. (1952). On Experiments Designed to Determine Effects of Underwater Explosions on Fish Life. *Calif. Fish and Game*. 33 (1), 333-365.

2) Aplin, J.A. (1947). The Effect of Explosives on Marine Life. *Ibid*. 33 (1), 23-27.

3) 末広恭雄 (1957). 魚群に及ぼす砲声の影響に関する研究. 農林水産応用研究費による協同研究報告.

4) Suyehiro, Y. *et al* (1957). Movement of the Fish in Response to Sound Stimuli with Reference to Sound-intensity. *Jap. Jour. Ichthyol*. 6 (4/5/6), 136-140.

5) 大武政芳（1959）. 水中における大発破施工法の一考察について. 運輸省第4港湾建設局（工業火薬協会）.

EXPLANATION OF PLATES

PLATE I

Scenes of the explosions of dynamite charges in Ushine cove

A: Outside of dike at the cove

B: Near the dike (left-hand outside)

C: Inner-side of the cove

D: Blasts of first 27 charges in the operation Feb. 29 (early camera-shuttered)

E: Gas boils produced by 27 charges

F: Blasts of second 13 charges on same day

G: Gas boils produced by the second explosions

H: Free fishes killed (one box of 7 ones)



T.KUROKI & K.KUMANDA : Effects of Underwater Explosions

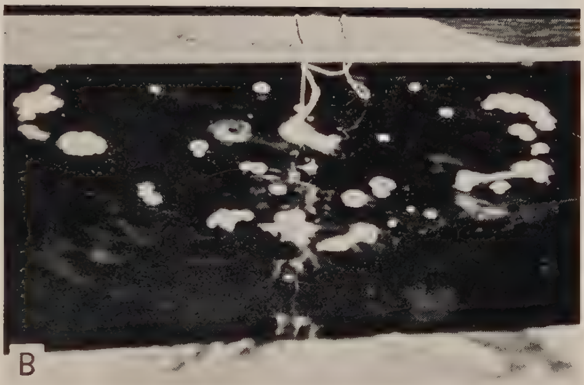
PLATE Ⅱ

Burning test of powder-train and pressure measuring instrument

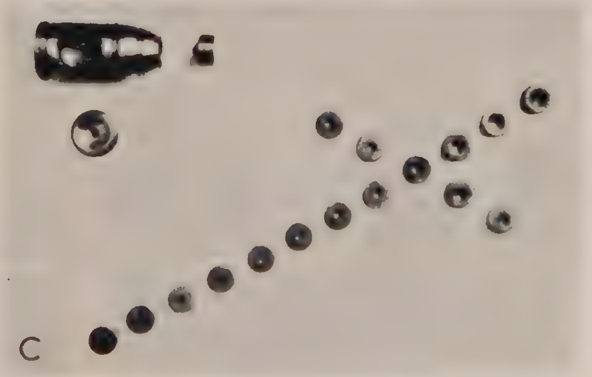
A : Gas bubbles blown up from burning train (3～5 mm bubbles from burned end, 1 mm or less dia. ones from skin of burned part of train)

B : Yellow and powder-smelling gas bubbles at the water surface

C : Pressure recieving instrument and lead pieces dented by various pressures







T.KUROKI & K.KUMANDA : Effects of Underwater Explosions

PLATE III

Oscillograms of underwater sound waves

A: Sound wave by first explosion in the preliminary tests (sweep 1/10 sec, exposure 1/8 sec)

B: Ditto (sweep 1/100 sec, exposure 1/25 sec)

C: Sound wave by second explosion in the preliminary tests (sweep 1/10 sec, exposure 1/4 sec)

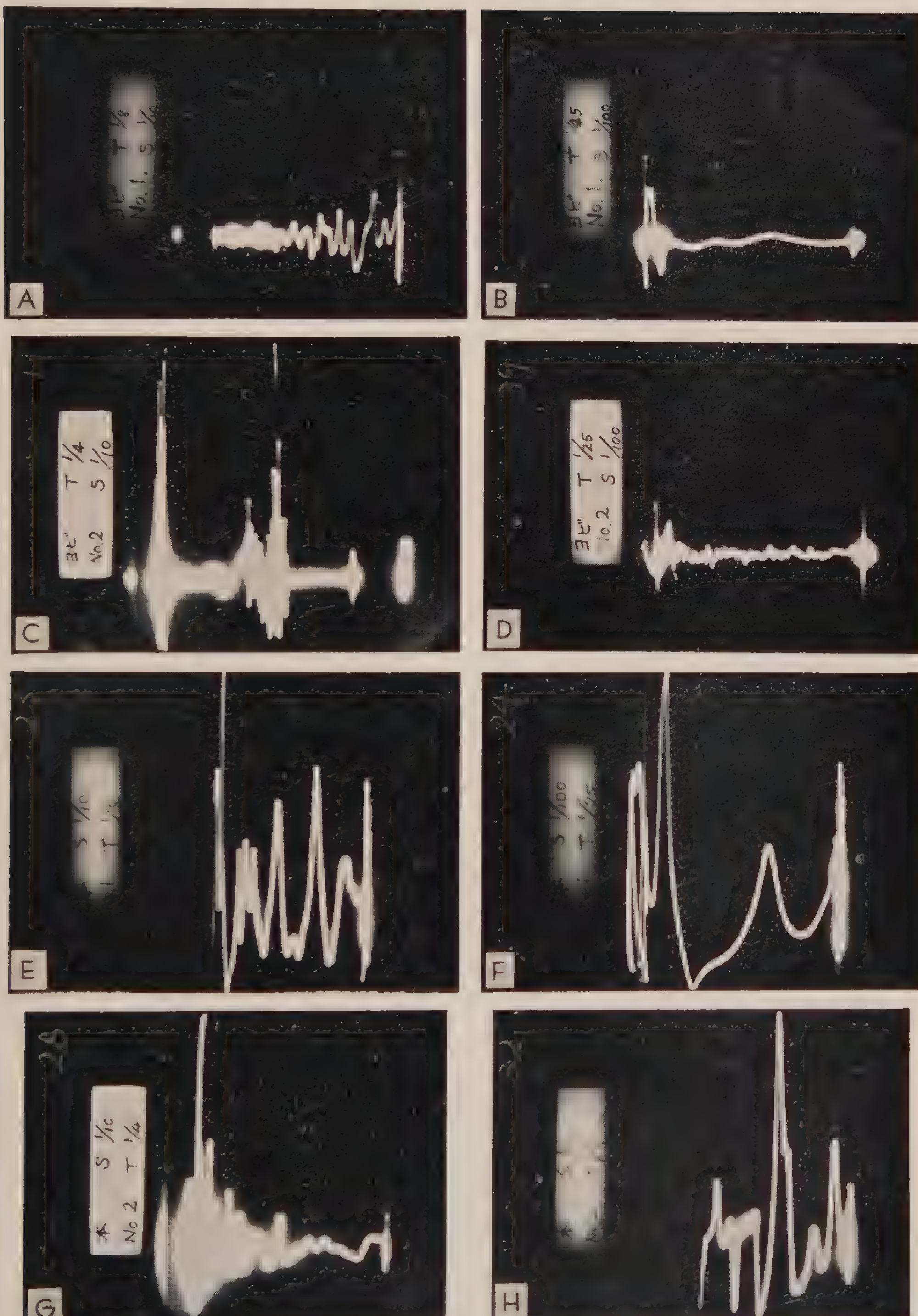
D: Ditto (sweep 1/100 sec, exposure 1/25 sec)

E: Sound wave by explosions of 27 charges (sweep 1/10 sec, exposure 1/8 sec)

F: Ditto (sweep 1/100 sec, exposure 1/25 sec)

G: Sound wave by explosions of 13 charges (sweep 1/10 sec, exposure 1/4 sec)

H: Ditto (sweep 1/10 sec, exposure 1/8 sec)



T.KUROKI & K.KUMANDA : Effects of Underwater Explosions

海水より分離した寒天分解菌について

木　村　喬　久
（北海道大学水産学部水産細菌学講座）

Studies on Marine Agar-digesting Bacteria

Takahisa KIMURA

Abstract

The author isolated 6 strains of agar-digesting bacteria from sea water samples which were collected in the Northern Pacific (see Table 1) and the isolates were taxonomically studied. The following results were obtained:

1) Morphological and physiological characteristics and sesitivity to certain antibiotics of the isolates are summarized in Tables 2, 3, and 4.

2) On the basis of the above results, the 6 strains were classified as follows:
Strain Ag 3; genus *Agarbacterium* (species unknown)
Strain Ag 4; genus *Pseudomonas* (species unknown)
Strains Ag 5, 6 and 7; *Agarbacterium reducans*
Strain Ag 8; *Agarbacterium uliginosum*

3) Strains Ag 3, 5, 6, 7 and 8 had digesting ability of agar and alginic acid, though strain Ag 4 lacked the alginic acid-digesting ability (see Table 5).

Gran[1] がノールウエー海岸の海水中より *Bac. gelaticus* を分離報告して以来 Gray & Chambers[2], Lundestad[3], Waksman *et al.*[4], Stanier[5] その他多くの研究者により多数の寒天分解菌が発見され，Bergey's Manual (7 Ed.)[7] によれば *Pseudomonas*, *Alginomonas*, *Vibrio*, *Cytophaga*, *Agarbacterium* 属等に約40種の寒天分解菌が記載されている。また最近 Kadota[8], 石松[9], 日高・鮫島[10], Araki & Arai[11], Yaphe[12], Swartz & Gordon[13] 等によりそれぞれ寒天分解菌が分離され，それ等の菌株の分類学的検討や，寒天分解酵素の酵素化学的な性状について報告されている。著者等の教室では1958年より海洋細菌に関する研究を進めているが，1958年5月〜8月の間に，北緯50度以北の北洋海域61測点より312件の海水試料を採取し，それ等の試料より711菌株を分離したが，それ等のうち Table 1 に示す6測点で採取した海水より分離した6菌株が寒天を著明に分解することを見出したので，本報においてこれ等6菌株の諸性状を観察し，分類学上の位置の検討を試みた結果を報告する。なお後に記述するようにこれ等6菌株中5株は寒天分解性のほか同様海藻成分のアルギン酸分解性も併有した。

実　験　方　法

1) 供試菌の分離法：前述の各測点においてナンセン型採水器により採水した海水を予め殺菌したポリエチレン容器に採取後，ただちに冷蔵庫（0〜5℃）に保存し，帰港後直ちに研究室の冷蔵庫（0〜5℃）に移し，順次 ZoBell 2216E 培地で（平板法）により菌を分離し，これから純粋分離した711菌株より明かに寒天液化力を有する6菌株を選び供試菌とした。

2) 細菌学的諸性状の観察法：分離菌の諸性状の観察には，ZoBell 2216E 培地（液状の場合は寒天をのぞく）を基礎培地とし，以下常法にしたがって実施した。なおゼラチン，澱粉の消化試験は平板法による Gordon & Smith[15] の方法に準拠し，カゼインの消化試験は牛乳寒天平板による方法で観察し，糖の分解試験には人工海水を使用した Barsickow の改良培地を用い，また至適 pH の観察には ZoBell 2216E 培地の寒天を

Table 1. Origin of sea water samples for isolated organisms

Station No.	Location of sampling		Depth of sampling (m)	Date
	Latitude	Longitude		
Ag 3	60°51′N	175°00′W	30	June 14, 1958
Ag 4	58°00′N	175°00′W	0	〃 15, 〃
Ag 5	50°00′N	175°00′E	49	〃 22, 〃
Ag 6	54°00′N	175°00′E	0	〃 25, 〃
Ag 7	56°05′N	175°00′E	100	〃 26, 〃
Ag 8	58°00′N	175°00′E	0	〃 27, 〃

0.25%の割に加えた半流動培地及び寒天非添加培地を用い，至適温度の観察には前記寒天非添加培地及び寒天斜面培地を用い，それぞれ発育の程度を肉眼的に観察した。

3) 抗菌剤に対する態度の観察法： ペニシリン，オキシテトラサイクリン，クロラムフエニコール，ジヒドロストレプトマイシン，スルフアイソキサゾール等の各種抗菌剤に対する態度は，heart infusion 一人工海水寒天培地を平板としてペッド・プレート法により観察した。

4) 寒天及びアルギン酸分解力の定量的観察法： 基礎培地して前記 ZoBell 2216E 培地より寒天をのぞいたものにそれぞれ0.25%の割合に寒天及びアルギン酸ソーダを溶解し，pH を7.5に修正，3 ml ずつ試験管に分注，滅菌後，予め固定培地に前培養した供試菌を比濁法により一定濃度の懸濁液とし，その 0.3ml ずつ各試験管に接種し，25°C で24時間，48時間及び96時間培養後寒天及びアルギン酸の分解により生ずる還元力の増加を Somogyi-Nelson 法[16]により光電比色し，ガラクトース換算量をもつてその活度を表した。

実験結果及び考察

前述の如き方法による供試菌の一般的性状は，Table 2，3-(1) 及び Table 3-(2) に示す通りである。すなわち Table 2に示す如く供試菌はいずれも，グラム陰性桿菌で，芽胞を形成せず，Ag 8をのぞく他の5株はいずれも単極毛で活潑な運動性を示す。固形培地上では一般によく発育し，色素産生はそれほど著明ではない。平板上の集落は一般に中等大の正円を示す。いずれも海水成分を含まぬ普通ブイヨンには発育しないが人工海水ブイヨンにはよく発育し，Ag 3は液面に厚い被膜を，Ag 4は薄膜及び白色リングを形成，Ag 5，6及び7は白色リングのみ形成し被膜は形成せず，Ag 8 はリングも形成しない。また各菌株はいずれも一様に混濁し，Ag 8 を除く5株は沈澱を形成する。上記の如く各供試菌株の形態学的性状には著しい差は認められないが，運動性，液状培地の発育態度等においてAg 3；Ag 4；Ag 5，6，及び7；Ag 8はそれぞれ若干の差異が認められる。

次に Table 3-(1) に示す生物学的性状においては，全菌株ともインドール産生，H_2S 産生，カゼインの消化性，牛乳培地の発育，V. P. 反応及び M. R. 試験，ウレアーゼ産生，溶血性（家兎血），病源性（マウスに対する），嫌気状態での発育等いずれも陰性で，硝酸塩の還元性，アンモニア産生はいずれも陽性，また死滅温度，発育温度，発育 pH 域，耐塩性も大体近似しているが，メチレン青還元性においては Ag 3のみ（−），Ag 8が（±），クエン酸塩培地での発育は Ag 5のみが（±），澱粉の消化性は Ag 4のみ（−），ポテト培地上の発育は Ag 4のみが（+）で黄色色素を産生し，同じくAg 4のみはアルギナーゼ産生（±）等の点が異なり，これ等の結果からも Ag 5，6及び7はほぼ同様の性状を示すが，その他の菌株においては若干の差異が認められる。

次に Table 3-(2) に見る如く炭水化物に対する態度は全菌株共に一般に広い活性を示すが，Table 2及び Table 3-(1) の結果と同様 Ag 5，6，及び7は若干の差異はあつてもよく一致し，他の菌株とは明ら

Table 2. Morphological characteristics of isolated agar-digesting bacteria

Strain No.	Form	Size (μ)	Motility	Flagella	Spore	Gram	Agar colony	Agar stroke	Sea water broth	Normal broth
Ag 3	Rods or rarely curved, singly or rarely chains	1.0 by 1.6 to 2.6	+	Single polar	–	–	Circular, small or moderate, glistening, yellowish white, translucent	Abundant, filiform, opaque, yellowish white	Abundant, thick membranous, moderate turbid, moderate sediments	Not growth
Ag 4	Rods, singly or rarely chains	1.0 to 1.3 by 1.6 to 4.2	+	〃	–	–	Circular, small or moderate, glistening, brownish white, slightly swarming, translucent	Abundant, echnulate, opaque, white	Abundant, white ring and pellicle, very turbid, abundant sediments	〃
Ag 5	Rods or rarely curved, singly	0.8 to 1.0 by 1.6 to 3.2	+	〃	–	–	Circular, small or moderate, glistening, brownish white, translucent	Abundant, filiform, opaque, yellowish white	Abundant, white ring, very turbid, scanty sediments	〃
Ag 6	Rods or rarely curved, singly or rarely chains	1.0 by 1.6 to 3.2	+	〃	–	–	Circular, small or moderate, glistening, yellowish white	Abundant, filiform, opaque, white	Abundant, white ring, moderate turbid, scanty sediments	〃
Ag 7	Rods or rarely curved, singly	1.0 by 1.6 to 3.2	+	〃	–	–	Circular, moderate or large, glistening, brownish white, translucent	Abundant, filiform, opaque, white	Abundant, white ring, very turbid, scanty sediments	〃
Ag 8	Rods, singly	1.0 to 1.3 by 1.6 to 4.2	–	None	–	–	Circular, moderate or large, glistening, brownish white, translucent	Abundant, filiform, opaque, white	Moderate, moderate turbid	〃

かに異る態度を示す。以上の諸性状を総括するに，Ag 5，6 及び 7 は同一の Species，その他の菌株はそれぞれ異つた Species と考えられる。

Table 3-(1). Physiological characteristics of isolated agar-digesting bacteria

Strain No.		Ag 3	Ag 4	Ag 5	Ag 6	Ag 7	Ag 8
Indole production		−	−	−	−	−	−
H_2S production		−	−	−	−	−	−
Nitrate reduction		+	+	+	+	+	+
Ammonia production		+	+	+	+	+	±
M.B. reduction		−	+	+	+	+	±
V.P. reaction		−	−	−	−	−	−
M.R. test		−	−	−	−	−	−
Citrate medium (growth)		+	+	±	+	+	+
Gelatine agar (plate)	Growth	+	+	+	+	+	+
	Hydrolysis	+	+	+	+	+	+
Starch agar (plate)	Growth	+	+	+	+	+	+
	Hydrolysis	+	−	+	+	+	+
Milk agar	Growth	+	+	+	+	+	+
	Casein hydrolysis	−	−	−	−	−	−
Milk (growth)		−	−	−	−	−	−
Potato medium	Growth	−	+	−	−	−	−
	Chromogenic	−	Y.G.	−	−	−	−
Urease production		−	−	−	−	−	−
Alginase production		+	±	+	+	+	+
Temperature relation (°C)	Max.	35～40	35～40	35～40	35～40	35～40	35～40
	Opt.	25	25	25	25	25	25
	Min.	<5	<5	<5	<5	<5	<5
	Extinction	40～50	40～50	50～60	40～50	40～50	40～50
pH relation	Max.	10	10	10	10	10	10
	Opt.	7～8	7～8	7～8	7～8	7～8	7～8
	Min.	5	5	4～5	3	4～5	4～5
Salinity range (% NaCl)	Max.	7.5	10.0	>15.0	>15.0	>15.0	10～15
	Opt.	1.0	1.0～3.0	3.0～5.0	1.0～5.0	1.0～5.0	3.0
	Min.	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Hemolysis (rabbit)		−	−	−	−	−	−
Pathogenesis (mice)		−	−	−	−	−	−
Anaerobic growth		−	−	−	−	−	−

M.B. : Methylene blue; V.P. : Voges-proskauer; M.R. : Methyl red; Max. : maximum; Opt. : optimum; Min. : minimum; Y.G. : yellowish gray.

Table 3-(2). Physiological characteristics of isolated agar-digesting bacteria, acid production from carbohyrate at 25°C

Strain No.	Ag 3	Ag 4	Ag 5	Ag 6	Ag 7	Ag 8
Rhamnose	+	+		+	+	+
Arabinose	+	+	−	−	−	+
Xylose	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	−	+	+
Dextrine	+	+	+	−	+	+
Starch	+	−	+	+	+	+
Inulin	+	−	+	+	+	+
Cellulose	+	−	−	−		+
Glycerol	+	−	−	+	+	+
Sorbitol	−	−	−		−	−
Dulcitol	+	+	−	−	−	−
Innositol	+	+	−		−	+
Mannitol	−	−	+	+	+	−
Salicine	+	+	+	+	+	+

これ等6菌株はいずれもグラム陰性，非芽胞形成桿菌で，炭水化物から酸を産生するがガスを産生せず，また寒天を分解することから Bergey's Manual に準拠すれば Family *Pseudomonadaceae*, *Spirillaceae* 及び *Achromobacteriaceae* のいずれかに属するものと考えられる。Ag 5，6及び7の3株はいずれも単極毛菌で形態学的には *Pseudomonadaceae* 或は *Spirillaceae* に属すると考えられるが，生物学的[illegible] *Achromobacteriaceae* 中の Genus *Agarbacterium* [illegible] Family *Achromobacteriaceae* 中運動性を有するものは一般に周毛菌であるが，本 Family 中で Genus *Agarbacterium* 中には運動性を有するも鞭毛の type の明瞭にされていないものが 4 Species あり，その中の non-chromogenic でポテト培地に発育せぬ ***Agarbacterium reducans*** によく一致する。しかしこの Species は菌形が短桿状で，ラムノース及びアラビノースから酸を産生するもラクトース或はキシロースから酸を産生しないが Ag 5，6 及び 7 はいずれも中等大の桿菌で，アラビノースから酸を産生せず，ラクトース及びキシロースから酸を産生し，また Ag 5 はラムノースから酸を産生しない。以上若干の点において差が認められるが，これ等の5株は *Agarbacterium reducans* と同定しても差支えないものと考えられる。次に Ag 8 は同じく Genus *Agarbacterium*

中の非運動性でグルコースから酸を産生するもマンニトールから酸を産生しない *Agarbacterium uliginosum* と次の諸点で若干の相違点が認められるが他の諸点でよく一致し，*Agarbacterium uliginosum* と同定し得る。すなわち本 Species は液状培地に被膜及び沈澱を生ずるが，Ag 8 はこれらの性状を認めず，また本 Species は固形培地上で橙色または黄色色素を産生し，カゼインを分解せず，グリセロールから酸を産生しないが，Ag 8 は色素産生がそれほど明瞭でなく（微黄白色）カゼインを分解せず，グリセロールから酸を産生する。次に Ag 3 及び 4 については *Agarbacterium* 中に一致する Species が見当らず，*Pseudomonus* 及び *Vibrio* 中にも該当すべきものはない。

Shewan *et al.*[17] によれば *Pseudomonadaceae* はペニシリン（2.5 IU）に対し感受性なくストレプトマイシン（80γ）及びクロラムフエニコール（100γ）に感受性を有するに対し，*Achromobacteriaceae* はペニシリンに対しても感受性を有する。また *Pseudomonadaceae* 中の pigment-producing *Pseudomonas* はテラマイシン（オキシテトラサイクリン，10γ）に非感受性であるに対し，non-pigment-producing *Pseudomonas* 及び *Vibrio* は感受性を有し，更に *Vibrio* は Vibriostatic compound 0/129 にも感受性を有する。以上の Shewan 等の報告とは濃度が若干異るが供試菌の抗菌剤に対する感受性を示すと Table 4 の通りである。なお遺憾ながら Vibriostatic compund 0/129は入手困難で供試し得なかつた。すなわち供試6菌株はいずれもテラマイシン（10γ）に対し感受性なく *Vibrio* に包含し得ない。また Ag 6，7 及び 8 についてはペニシリン（10μ）に対する感受性はほとんど認められず，この点で *Achromobacteriaceae* に包含することに若干の疑義を生ずるが，これ等の3株は色素産生能が著明でなく，テラマイシンに感受性を有しない点からむしろ前記生物学的性状から *Agarbacterium* と推定した結果を認めて差支ないものと考える。Ag 5 は明かにペニシリンに対して感受性を有し，テラマイシンに非感受性である点から，生物学的性状から同じく *Agarbacterium* に包含されるとしたことは妥当である。なお Ag 3 は抗菌剤に対する態度から同様 *Agarbacterium* に包含され得るが，上記のごとく生物学的性状より Species を決定する迄には至らなかつた。一方 Ag 4 はペニシリン感受性がなく，ポテト培地上で黄色色素を産生する点からテラマイシンに非感受性であつても Genus *Pseudomonas* に包含されるべきであろう。以上総括するに Ag 3 及び 4 は Species 不明ながら前者は Genus *Agarbacterium* 後者は Genus *Pseudomonus* に包含され，Ag 5，6 及び 7 は *Agarbacterium reducans*，Ag 8 は *Agarbacterium uliginosum* と同定される。

Table 4. The sensitivity of isolated agar-digesting bacteria to certain antibiotics on heart infusion sea water medium at 25°C

Strain No.	Penicillin		Oxytetracyclin		Chloramphenicol (60γ)	Dihydrostrepto-mycin (100γ)	Sulfaisoxazol (50γ)
	(10 u.)	(1 u.)	(30γ)	(10γ)			
Ag 3	+	−	−	−	⧻	++	⧻
Ag 4	±	−	−	−	⧻	⧻	−
Ag 5	+	−	−	−	⧻	⧻	⧻
Ag 6	±	−	−	−	⧻	⧻	⧻
Ag 7	−	−	±	−	⧻	⧻	⧻
Ag 8	±	−	−	−	⧻	++	±

−：insensitive；±：slightly sensitive；+：sensitive；
++：markedly sensitive；⧻：very markedly sensitive.

次にこれ等6菌株の 25°C における発育にともなう寒天及びアルギン酸の分解力を定量的に観察した結果を示すと Table 5 の通りである。すなわちこれ等寒天分解菌のうち Ag 4 を除く他の5株は，極めて強力なアルギン酸分解力をも有することが明かである。現在 Bergey's Manual に記載されている Species の中で寒

Table 5. The agar-digesting or alginic acid-digesting activity of isolated agar-digesting bacteria when grown in 0.25% agar or sodium alginate which contained ZoBell 2216E medium at 25°C

Strain No.	Reducing sugar (equivalent galactose γ/ml)				
	Agar			Alginate	
	48 hr	96 hr	104 hr	48 hr	96 hr
Ag 3	63	123	113	82	738
Ag 4	76	89	123	37	42
Ag 5	104	139	89	164	722
Ag 6	35	71	89	104	667
Ag 7	71	—	93	214	747
Ag 8	71	119	89	36	652

天及びアルギン酸の両者に対する活性を示すものは Genus *Alginomonas* に属する *A. alginovora*, *A. fucicola* などがあるが，これ等と著者の分離菌の性状とは著しく異り，このアルギン酸に対する活性については，各種の Genus についても今後更に検討が必要であろう。なおこれ等6菌株の酵素化学的究明については今後更に研究を進めるつもりである。

要　　　約

1) 1958年5～8月[illegible]61[illegible]から312件の海水を採取し，これらの培養により711菌株を分離した[illegible]Table 1に示す6[illegible]で採取した海水から分離された6菌株は寒天を著明に液化した。

2) これら6菌株の寒天[illegible]生物学的性状，並びに抗菌性物質に対する感受性よりそれぞれ Ag 3: Species 不明の *Agabacterium*, Ag 4: Species 不明の *Pseudomonas*, Ag 5，6 及び7: *Agarbacterium reducans*, Ag 8: *Agarbacterium uligionsum* と同定した。

3) これら6菌株のうち Ag 4 を除く他の5株は寒天分解力のみでなく，極めて強力なアルギン酸分解力を併有した。

本実験を行[illegible]川教授に対し深甚の謝意を表し，また種々御助力をいただいた信濃晴雄学士に感謝する。なお本研究費の一部は文部省科学研究費並びに財団法人水産科学研究奨励会交付金によるもので，ここに記して感謝の意を表する。

（本論文の要旨の一部は昭和34年度日本水産学会春季大会において報告した）

文　　　献

1) Gran, H.H. (1902). *Zbl. Bakt.* 9, 562.

2) Gray, P.H.H. & Chambers, C.H. (1924). *Anu. Appl. Biol.* 11, 324.

3) Lundestad, J. (1928). *Zbl. Bakt.* II Abt. 75, 321.

4) Waksman, S.A. & Bavendamm, W. (1931). *J. Bact.* 22, 91.

5) ————————, Carey C.L. & Allen M.C. (1934). *J. Bact.* 28, 213.

6) Stanier, R.Y. (1941). *J. Bact.* 42, 527.

7) Breed, R.S. *et al.* (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7 Ed., 1094 p. New York: The Williams & Wilkins Co.

8) Kadota H. (1951). *Mem. Coll. Agr. Kyoto Univ.* **59**, 54.
9) 石松一雄 (1953). 大阪市工研報告 **14**, 1.
10) 日高富雄・鮫島宗雄 (1953). 鹿大水産紀要 **3**, 158.
11) Araki, C. & Arai, K. (1954). *Mem. Facul. Indust. Arts, Kyoto Techn. Univ. Sci & Tech.* **3**(**B**), 7.
12) Yaphe, W. (1957). *Can. J. Microbiol.* **3**, 987.
13) Swartz, N.N. & Gordon, N. (1959). *J. Bact.* **77**, 403.
14) Morita, R. & ZoBell, C.E. (1955). *Deep-Sea Res.* **3**, 66.
15) Gordon, R. & Smith, M.M. (1953). *J. Bact.* **66**, 41.
16) Somogyi, M. (1945). *J. Biol. Chem.* **160**, 69.
17) Shewan, J.M., Hodgkiss, W. & Liston, J. (1954). *Nature* **173**, 208.

アルギン酸分解菌の簡易鑑別法について

木　村　喬　久

（北海道大学水産学部水産細菌学講座）

A Method for Rapid Detection of Alginic Acid digesting Bacteria

Takahisa KIMURA

Abstract

(1) A method for rapid detection of alginic acid-digesting bacteria is described. The method is as follows:

a) Medium; For land form bacteria, nutrient ager plate (see Fig. 5) containing 0.75 % sodium alginate is admirable (optimum concentration of alginate is 0.75-1.0 %, see Fig. 3).

For marine bacteria, ZoBell 2216E[11] agar plate containing 0.75 % sodium alginate is more suitable than 2 other media (see Table 5).

b) Procedures; The plates are dried overnight and are then spot-inoculated with actively growing cultures on agar slants. After incubation at suitable temperature for over 48 hours, 0.5 N sulfuric acid (sulfuric acid concentration has not effect on this test within the limits of 0.5-2.0 N, see Fig. 4) or 70 % ethanol (see Fig. 1) are flooded on plate surface as preciptating agents of alginate. The presence of alginic acid-digesting bacteria is indicated by a clear area around the colony. Furthermore, the pH value of the media does not effect on this test within the limits of pH 6-8 (see Table 4).

(2) By the use of this method, 275 strains of alginic acid-digesting bacteria were detected from 1523 strains of marine bacteria (see Table 2); on the other hand alginic acid-digesting strain was not found in 49 strains of land form bacteria (see Table 3).

(3) It may be possible to count of the number of alginic acid-digesting bacteria by the application of this method on the plate counting method (see Fig. 6).

著者[1]は先，海水から分離した6株の寒天分解菌について分類学的検討を行うと共に，これ等分離菌株中の5株がアルギン酸分解力を保有することを報告した。アルギン酸分解菌はWaksman, Carey & Allen[2]により海水及び土壌より分離，報告されて以来現在まで十数菌種が報告されている[2-5]。またThφtta & Kass[6]，井上・安藤等[7]により海産細菌，土壌細菌のみならず，腸内細菌中にもアルギン酸分解力を有するものの存在することが明らかにされ，最近山口[8]はアルギン酸分解力を有する *Cloaca cloacae* を報告している。Bergey's Manual (7 Ed.)[9]ではFamily *Psudomonadaceae* に属するGenus *Alginomonas* 中の5 Species，Family *Enterobacteriacea* Tribe *Escherichiae* に属するGenus *Alginobactor* 中の1 Speciesが記載され，また*Escherichiae*に属する5 Genusの鑑別の為の一つのKeyとしてアルギン酸分解試験が採用されている。以上の如く海水中には勿論，土壌，腸内等にもアルギン酸分解菌が広く分布しているが，これらの鑑別法は研究者により異り，アルギン酸塩添加培地の流動性変化を観察するもの，還元力の変化を測定するもの，その他種々採用されているが，いずれも結果を得るに数日乃至十数日を要し，また手技も複雑で，特に多数の菌株についてのscreening testには不適である。著者等の研究室では1958年～1959年の間に，北洋及びその他の海域で採取した海水から1500余株の海洋細菌を分離し，現在これ等分離菌株の諸性状を検査し，もって海水中の菌叢の分類学的検討を行いつつあるが，これ等の菌株中には前記の寒天分解菌5株のほか，更に多数のアルギン酸分解菌の存在することを予想し，まずアルギン酸分解菌の簡易鑑別法について検討を行った

Gordon & Smith[1] は抗酸性菌の澱粉消化試験の簡易法として，劃線培養した1％澱粉添加寒天平板面に95％アルコールを注加し，集落の周囲に出現する透明帯で鑑別し，またゼラチン分解性についても0.4％ゼラチン添加寒天平板面に塩酸酸性昇汞水を注加して同様の結果の得れることを報告している。著者はアルギン酸添加寒天平板がアルコールまたは鉱酸により白濁することから同様の方法がアルギン酸分解菌の鑑別に利用し得るものと考え，2，3の検討を加えた結果，ほぼその目的にそうことが出来たので，ここにその方法を報告し，併せて前記1500余株の海洋細菌及び教室の保存菌株を供試しアルギン酸分解性を観察した結果を報告する。

実 験 I

基礎培地 ZoBell 2216E寒天培地[11]* に1％の割にアルギン酸ソーダを添加した培地を平板とし，これに前記6株の寒天分解菌を spot culture (25°C, 48時間) 後，培地面に70％エタノールを注加した結果，Table 1に示す還元力の測定値によく一致する透明帯が集落の周囲に出現した (Fig. 1)。またアルギン酸ソーダは鉱酸により不溶性のアルギン酸となり，上記アルコールの場合と同様な白濁を生ずることから，70％エタノールに代え硫酸を使用しても同様の結果が得られた。(Fig. 2 は1N硫酸を添加した場合の結果を示す)

Table 1. Alginic acid digesting activity of isolated marine ager-digesting bacteria, when grown in ZoBell 2216E medium (agar free) containing 0.25% sodium alginate at 25°C

Strain No.	Reducing sugar (equivalent galactose γ/ml) 48 hr	96 hr
Ag 3	82	738
Ag 4	37	42
Ag 5	164	722
Ag 6	104	667
Ag 7	214	747
Ag 8	36	652

実 験 II

次にアルギン酸ソーダの最適添加量を知るために実験IIを行つた。すなわち基礎培地に添加するアルギン酸ソーダの量を0，0.25，0.5，0.75，1.0及び1.25％となるように各培地を調製し，その平板面に実験Iの場合と同様の供試菌中の2株及び対照としてアルギン酸非分解菌2株を spot culture し (25°C，48時間)，それぞれの培地面に1N硫酸を注加した結果 Fig. 3に示す如き結果を得た。すなわち対照培地 (0％) では勿論白濁を生ぜず，0.25％及び0.5％では白濁の程度が弱く鑑別が困難で，また1.25％では菌の発育は極めて良好であるが透明帯が明確でなく，0.75～1.0％で最も好適な結果が得られた。

次に培養後，培地面に注加する硫酸の濃度の最適値を求めるために，0.75％アルギン酸ソーダ添加ZoBell 2216E寒天平板に前記各供試菌を培養した後，種々の濃度の硫酸を培地面に注加した結果 Fig. 4 に見られる成績を得た。すなわち硫酸濃度が0.5～2.0Nの範囲内では白濁の程度に大差は認められない。

以上の結果から，培地のアルギン酸ソーダ添加量は0.75％，反応液の硫酸濃度は0.5N で充分あることが明らかとなつたので，このような実験条件により，著者等の研究室で海水から分離した1500余株の海洋細

* ZoBell 2216E 寒天培地は原報では天然海水を使用しているが，本報の実験においてはすべて天然海水に代えて人工海水を用いた。**人工海水の組成** (Herpst): NaCl 30.0g, KCl 0.7g, $MgSO_4$ 2.6g, $MgCl_2$ 5.0g, $CaSO_4$ 1.0g, 蒸溜水 1000ml.

菌**のアルギン酸分解力を検査した。その結果Table 2に示す如く，前記5株の寒天分解菌以外に多数のアルギン酸分解菌を検出することが出来た。

Table 2. Number of detected alginic acid-digesting strains in the isolates from water samples of several sea areas

Area	Year	Total number of isolates	Number of alginic acid-digesting strains
North Pacific, Bering Sea and Okhotsk Sea	1958	711	249
North Pacific and Bering Sea	1959 (1)	706	25
Pacific Ocean (East off Tohoku District of Japan)	1959 (2)	106	1

実　験　III

実験I，実験IIに引き続き海洋細菌以外の供試菌として，北海道衛生研究所において分離されたアルギン酸分解性腸内細菌，すなわち En 9; *Eschrichia coil* (H.I.P.H.), En 10; *Aerobacter cloacae* (H.I.P.H.), En 11; *Aerobacter aerogenes* (H.I.P.H.), の3菌株の分与を受け，普通寒天培地に0.75%の割にアルギン酸ソーダを添加した平板培地で同様アルギン酸分解試験を行つた。その結果 Fig. 5 に見られる如く，上記腸内細菌の場合は37°C，48[illegible]後，[illegible]にアルギン酸分解性が確認された。次に対照試験としてTable 3に示す[illegible]について，アルギン酸分解力を前試験同様普通寒天を基礎培地として試験した結果全菌株陰性の成績を得た。

Table 3. The tested microorganisms of land form bacteria

Salmonella paratyphi A	*Bacillus mesentricus fuscus*
〃 *abortus equi*	〃 *mesentricus ruber*
〃 *paratyphi* B	〃 *mesentircus vulgatus*
〃 *reading*	〃 *megatherium pumulus*
〃 *typhi murium*	〃 *megatherium* NRRL B 739
〃 *paratyphi* C	〃 *subtilis* PCL
〃 *cholerae suis*	〃 *subtilis* NRRL 558
〃 *nagoya*	〃 *prodigiosus*
〃 *newport*	〃 *butylicus*
〃 *bonariensis*	〃 *denitrificans*
〃 *typhi*	〃 *tumedaciens*
〃 *enteritidis*	〃 *fichina*
〃 *dublin*	〃 *lactis immobilis*
〃 *pullorum*	〃 *natto*
〃 *anatum*	〃 *pasteurii* (Miquel) Chester
〃 *london*	*Bacterium xylinum*

** 供試海洋細菌の分離法；Table 2中の1958年度に分離した菌株は北太平洋，ベーリング海及びオホーツク海の各海洋観測点でナンセン採水器により水面〜水深1500mの各水層より採取した海水を滅菌容器に移し船内冷蔵庫に保存し帰港後研究室で，また1959年度(1)は北太平洋及びベーリング海，1559年度(2)は三陸沖で同様各海洋観測点の各水層よりJ-Z. 細菌検査用採水器で採取した海水を直ちに船内研究室で，それぞれ ZoBell 2216E 培地で混釈培養後，純粋分離を行つたものである。

Salmonella give
〃 *newington*
〃 *senftenberg*
Escherichia coli
〃 *coli* (0-55)
〃 *coli* (0-111)
〃 *freundii*
Coli form { coli type / inter. type / aero. type }

Proteus vulgaris Hauser
〃 *morganii*
Pseudomonas fluorescens 33F
〃 *fluorescens* 43
〃 *fluorescens* Migula
Micrococcus perflavus Bergey
Sarcina lutea

実 験 IV

次に培地の pH 及びその組成が本試験法に及ぼす影響を知るために次の如き実験を行つた。すなわちまず 0.75%アルギン酸ソーダ添加 ZoBell 2216E寒天培地の pH を 5～9にそれぞれ調節し，実験IIにおいてアルギン酸の分解性を確認した海洋細菌の 4 株及び実験IIIに供試したアルギン酸分解性腸内細菌 3 株を供試菌として同様の実験を行つた結果 Table 4 に示す如き成績を得た。すなわち海洋細菌の場合 pH 6～8の範囲

Table 4. Effect of pH values of media on alginase test

pH	Strain No.	Activity 48 hr	Activity 96 hr	Growth 48 hr	Growth 96 hr	Strain No.	Activity 48 hr	Activity 96 hr	Growth 48 hr	Growth 96 hr
5	1032 - 1	−	+	+	+	En 9	+	+	+	+
	1062 - 3	−	+	+	+	En 10	+	+	+	+
	1175 - 3	−	+	+	+	En 11	+	+	+	+
	1241 - 1	−	±	+	+					
6	1032 - 1	+	+	+	+	En 9	++	++	+	+
	1062 - 3	+	+	+	+	En 10	++	++	+	+
	1175 - 3	+	+	+	+	En 11	+	++	+	+
	1241 - 1	+	+	+	+					
7	1032 - 1	+	+	+	+	En 9	++	++	+	+
	1062 - 3	+	+	+	+	En 10	++	++	+	+
	1175 - 3	+	+	+	+	En 11	+	++	+	+
	1241 - 1	−	+	+	+					
8	1032 - 1	+	+	+	+	En 9	++	++	+	+
	1062 - 3	+	+	+	+	En 10	++	++	+	+
	1175 - 3	+	+	+	+	En 11	+	+	+	+
	1241 - 1	−	+	+	+					
9	1032 - 1	+	+	+	+	En 9	+	+	+	+
	1062 - 3	+	+	+	+	En 10	+	+	+	+
	1175 - 3	+	+	+	+	En 11	+	+	+	+
	1241 - 1	−	±	+	+					

Strains 1032-1, 1062-3, 1175-3 and 1241-1 are marine bacteria, ZoBell 2216E medium containing 0.75% sodium alginate was used for test at 25°C.
Strain En 9; *E. coli* (H.I.P.H.), En 10; *A. cloacae* (H.I.P.H.),En 11; *A. aerogenes* (H.I.P.H.), nutrient agar medium coutaining 0.75 % sodium alginate was used for test at 37°C.

内ではほとんど同程度の結果が得られ，一方腸内細菌の場合には pH 6 〜 8 は勿論 5 及び 9 においても充分鑑別することが出来，培地 pH の影響はほとんど認められなかつた。また培地の組成による影響については，実験Ⅱにおいて海洋細菌中アルギン酸分解陽性を確認した25菌株を供試菌とし，基礎培地として ZoBell 2216E 培地，同培地の人工海水を蒸溜水で置換した培地及び普通寒天培地の蒸溜水を人工海水で置換した 3 種の培地を用い同様に試験を行つた結果 Table 5 に示す如く海水成分を除去した培地は海洋細菌の発育に適せず，したがつて供試菌中ただ 1 株において陽性成績が認められたに過ぎなかつた。また普通寒天培地に海水成分を添加した場合においては，アルギン酸分解力の強力な菌株は充分鑑別され得るが，分解力の比較的弱い菌株では陽性反応を示すに至るまでの培養時間が遅延するか，もしくは陰性の結果を示した。

Table 5. Effect of composition of media on alginase test

Strain No.	Medium Ⅰ				Medium Ⅱ				Medium Ⅲ			
	Activity		Growth		Activity		Growth		Activity		Growth	
	48 hr	96 hr	48 hr	96 hr	48 hr	96 hr	48 hr	96 hr	48 hr	96 hr	48 hr	96 hr
1031-2	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1035-1	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1035-4	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1036-3	+	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	+	+	⧺	⧺
1038-1	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1038-2	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1043-1	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1045-2	+	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	−	−	⧺	⧺
1045-5	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1056-1	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1062-3	+	⧺	+	⧺	−	−	±	±	+	+	⧺	⧺
1126-5	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	+	⧺	⧺	⧺
1141-2	−	+	⧺	⧺	−	−	±	±	−	−	⧺	⧺
1166-3	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1175-3	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1204-1	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1241-1	±	+	⧺	⧺	−	−	±	±	−	−	+	⧺
1241-4	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	−	⧺	⧺	⧺
1241-5	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	+	⧺	⧺	⧺
1242-2	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1243-3	±	+	+	⧺	−	−	±	±	−	−	+	⧺
1244-2	±	+	+	⧺	−	−	±	±	−	+	⧺	⧺
1245-1	⧺	⧺	⧺	⧺	−	+	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1246-1	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺
1249-4	⧺	⧺	⧺	⧺	−	−	±	±	⧺	⧺	⧺	⧺

Medium Ⅰ ; 0.75% sodium alginate + ZoBell 2216E medium
Medium Ⅱ ; 〃 〃 〃 + sea water free ZoBell 2216E medium
Medium Ⅲ ; 〃 〃 〃 + sea water-nutrient agar medium

実験 V

本法が海水等の試料中に含有されるアルギン酸分解菌の菌数測定に利用され得るか否かを知るために次の如き実験を行つた。すなわちアルギン酸分解菌として前記 *E. coli* (H.I.P.H.), 非分解菌として *Sarcina lutea* を供試菌とし，両菌の生理的食塩水懸濁液を等量ずつ混和し，適宜希釈した後アルギン添加普通寒天培地を用い，常法に従つて混釈培養を行い試験した。すなわち Fig. 6 に見られる如く，明らかに陽性菌の集落周囲には透明帯が見られ，一方陰性菌の集落にはこれを認めず，本法により試料中のアルギン酸分解菌の菌数測定が可能であることを認めた。

考察

以上実験 I 〜 V の結果を総括的に考察するに，細菌のアルギン酸分解試験において，一般細菌では普通寒天培地，海洋細菌では ZoBell 2216 E 培地を基礎培地として，これ等に 0.75% の割にアルギン酸ソーダを添加し平板として，培地面に供試菌を spot culture した後（前者では 37°C，後者では 25°C で 48時間〜96時間），培地面に 0.5 N 硫酸或いは 70% アルコールを注加することにより簡易にアルギン酸分解性を鑑別することが可能である。（この場合病原菌においては反応液として後者の使用が望まれる）。また培地の pH は 6 〜 8 の範囲ではほとんど差異は認められない。従つて本法は従来の方法に比し迅速且つ容易に結果が得られ，特に多数の菌株について行われる screening test に応用して極めて有利であると考えられる。また本法は海水その他の試料中に含まれるアルギン酸分解菌の定量的菌数測定における混釈培養法に応用することも可能である。なお本法により著者等の研究室で海水から分離した海洋細菌1500余株中にアルギン酸分解菌が相当多数存在することが判明したが，今後これ等の分類学的検討を行うことは既報のアルギン酸分解菌が数菌種に過ぎないことに鑑み極めて興味ある問題と考える。

要約

著者はアルギン酸分解菌の鑑別法について検討した結果，screening test法として次の如き簡易鑑別法を提唱したい。すなわち一般細菌では普通寒天培地（Fig. 5 参照），海洋細菌では ZoBell 2216 E 培地（3 種の培地で比較検討した結果本培地が最適，Table 5 参照）を基礎培地として，これ等に 0.75% の割にアルギン酸ソーダを添加（Fig. 3 参照），この平板培地面に供試菌を spot culture 後（前者では 37°C，後者では 25°C，共に48時間以上），アルギン酸ソーダの precipitating agent として 0.5 N 硫酸（0.5〜2.0 N の濃度範囲では大差がない，Fig. 4 参照），或いは70% アルコール（Fig. 1 参照）を培地面に注加することにより，アルギン酸分解菌では集落周囲に明瞭な透明帯が出現する。なお本法における培地の pH は， 6 〜 8 の範囲ではほとんど鑑別に影響はない（Table 4 参照）。また本法は海水その他の試料中に含まれるアルギン酸分解菌の定量的菌数測定における混釈培養法に応用することが可能である（Fig. 6 参照）。次に本法により教室保存の海洋細菌1523株について試験した結果多数のアルギン酸分解菌が検出された（Table 2 参照）が，同様教室保存の海洋に由来しない49菌株についての試験ではアルギン酸分解性を有するものは見当らなかつた。

稿を終るに臨み，本実験の供試菌の一部としてアルギン酸ソーダ分解性腸内細菌の御恵与を頂いた北海道衛生研究所中村豊所長に謝意を表し，また本実験遂行に当り終始御懇切なる御指導と御校閲を賜つた坂井稔教授並びに実験中種々御援助を頂いた信濃晴雄学士に深甚なる感謝の意を表する。なお本研究費の一部は文部省科学研究費によるものでここに記して謝意を表する。

（本論文の要旨は昭和35年度日本水産学会春季大会において報告した。）

文　　献

1) 木村喬久 (1961). 北大水産彙報 12, (1), 33-40.
2) Waksman, S.A., Carey, C.L. & Allen, M.C. (1934). *J. Bact.* 28, 213.
3) 遠藤庄三 (1941). 植物学誌 55, 39.
4) Yoshikawa, S. (1954) *Sci. Rep. Hyogo Univ. Agric.* 1, 50.
5) Kooiman, P. (1954). *Biochem. et Biophys. Acta* 13, 338.
6) Thøtta, Th. & Kåss, E. (1947). *C.A.* 41, 791.
7) 井上勝弘・安藤芳明 (1956). 農化 30, 742.
8) 山口和夫 (1958). 農化 32, 483.
9) Breed, R.S. *et al* (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7 Ed., 1094p, New York; The Williams & Wilkins Co.
10) Gordon, R. & Smith, M.M. (1953). *J. Bact.* 66, 41.
11) Morita, R. & ZoBell, C.E. (1955). *Deep-Sea Res.* 3, 66.

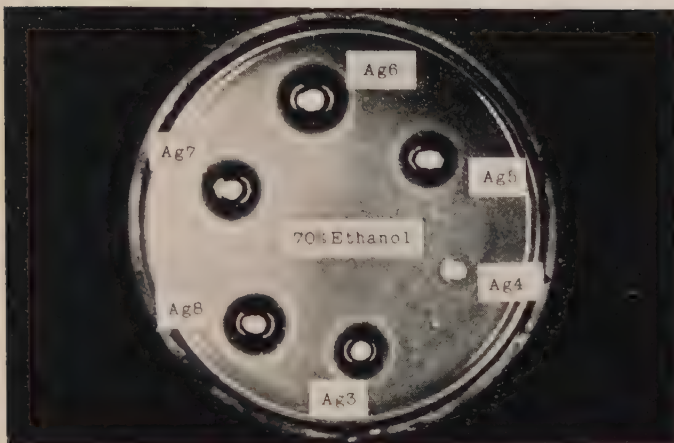


Fig. 1. Seventy per cent ethanol was used as precipitating agent, showing clear area which became visible around the colony of alginic acid-digesting strain.

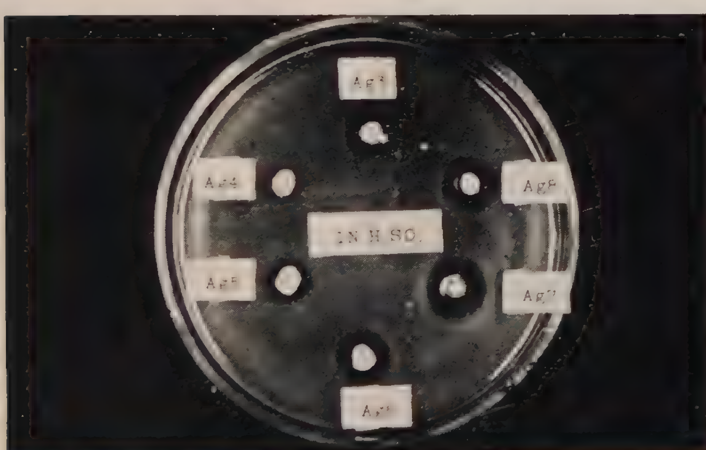


Fig. 2. A solution of 1 N sulfuric acid was used as a precipitating agent.



Fig. 3. Influence of sodium alginate concentration, showing that the optimum concentration was 0.75-1.0%



Fig. 4. Influence of sulfuric acid concentration as precipitating agents, showing that the concentration had no effect within the limits of 0.5–2.0 N



Fig. 5. The picture of the clear area when the alginic acid-digesting Enterobacteria were tested with nutrient agar medium as the basic medium

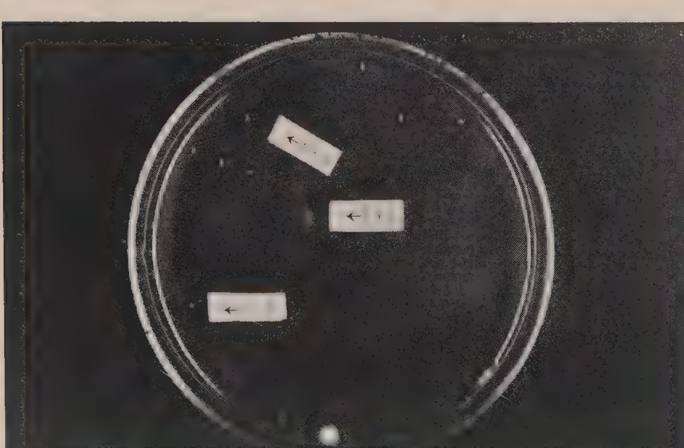


Fig. 6. The picture when the application of alginase test for counting of alginic acid-digesting bacteria by the plate counting method, showing it may be possible (The sample mixture was prepared with alginic acid-digesting *Escherichia coli* H.I.P.H. and *Sarcina lutea* in this model experiment.)

海藻の特殊成分の研究 I

紅藻に特有な紫外線吸収物質の存在について

辻野　勇・斎藤恒行
（北海道大学水産学部水産化学教室）

Studies on the compounds specific for each group of marine algae. I

Presence of characteristic ultraviolet absorbing material in Rhodophyceae

Isami TSUJINO and Tsuneyuki SAITO

Abstract

Ultraviolet absorption spectra of perchloric acid extract of 39 species of green, brown and red algae were determined.

Ultraviolet absorption spectra of each extract were determined over the range 220 to 360 mμ.

The results are given in Figs. 1-3. In general, all tested algae showed an absorption maximum or inflection at 260-270 mμ. On the other hand, red algae indicated another characteristic and sharp absorption maximum at 320-330 mμ, while green and brown algae did not indicate this maximum. These ultraviolet absorbing materials had no relation to phycobiline pigments.

海藻は緑藻，褐藻，紅藻等に分類されているが，その名の示すように各綱により呈する色に特徴がある含有している色素（クロロフィル，カロチノイド，色素蛋白質等）の種類は海藻分類上の一つの手がかり[1,2]ともなっており，特に色素蛋白質は紅藻類及び藍藻類に特有な成分なので，結晶化，成分組成等の化学的研究もよく行われている[3~8]。

しかしながら色素以外で特定な化学成分が海藻の分類といかなる関係にあるかについては，2，3の研究しか行われていないようである。Tseng[9]は海藻の粘質多糖類をphycocolloidと命名して分類との関係を示し，また Bidwell[10] は C^{14} を用いた光合成実験により緑藻，褐藻，紅藻の特有生成物として，それぞれフラクトース，マンニトール，フロリドシッドを認めている。

海藻の吸収スペクトルは主として色素の研究に関連して可視部スペクトルについての報告は数多いが，紫外部吸収スペクトルを詳細に測定した報告は見当らない。著者らは各種海藻抽出液の紫外吸収スペクトルを測定した結果，紅藻のみに共通して320~330mμ附近にきわめて特異的な吸収極大を有する化合物の存在することを認めた。この特異吸収は緑藻及び褐藻には認められない現象である。

実験方法

試料：函館市外七重浜及び茂辺地で採集した海藻を直ちに実験室に持ち帰り，水洗後試験に供した。Table 1 に示したように緑藻5種，褐藻15種，紅藻19種について行つた。

抽出法：水洗海藻約5gを10%過塩素酸50~100mlと共に磨砕抽出し，遠心分離（10,000r.p.m.）または濾紙パルプによる濾過により殆んど透明な抽出液を集め，10%過塩素酸で適当に稀釈してから紫外吸収を測定した。

紫外吸収：島津製光電分光光度計QB-50型（セル10mm）を使用し，220~360mμの間の吸光度を測定した。

Table 1. Taxonomic position of tested algae

Order, family, genus	Species		
	CHLOROPHYCEAE		
Ulvales			
Ulvaceae			
Ulva	U. pertusa	アナアオサ	(1)*
Enteromorpha	E. linza	ウスバアオノリ	(2)
Siphonocladales			
Cladophoraceae			
Cladophora	Cl. sp.	シオグサの一種	(3)
Chaetomorpha	Ch. moniligera	タマジュズモ	(4)
Siphonales			
Bryopsidaceae			
Bryopsis	B. hypnoides	オバナハネモ	(5)
	PHAEOPHYCEAE		
Dictyotales			
Dictyotaceae			
Dictyota	D. dichotoma	アミジグサ	(6)
Chordariales			
Leathesiaceae			
Leathesia	L. difformis	ネバリモ	(7)
Chordariaceae			
Heterochordaria	H. abietina	マツモ	(8)
Spermatochnaceae			
Nemacystus	N. decipiens	モズク	(9)
Desmarestiales			
Desmarestiaceae			
Desmarestia	D. viridis	ケウルシグサ	(10)
Dictyosiphonales			
Scytosiphonaceae			
Scytosiphon	S. lomentaria	カヤモノリ	(11)
Laminariales			
Chordaceae			
Chorda	C. filum	ツルモ	(12)
Laminariaceae			
Laminaria	L. japonica	マコンブ	(13)
Alaria	A. crassifolia	チガイソ	(14)
Undaria	U. pinnatifida	ワカメ	(15)
Fucales			
Sargassaceae			
Hijikia	H. fusiforme	ヒジキ	(16)
Sargassum	S. horneri	アカモク	(17)
	S. confusum	フシスジモク	(18)
	S. thunbergii	ウミトラノオ	(19)
	S. sp.	ホンダワラの一種	(20)

Order, family, genus	Species		
	RHODOPHYCEAE		
Bangiales			
Bangiaceae			
Porphyra	P. yezoensis	スサビノリ	(21)
Gelidiales			
Gelidiaceae			
Gelidium	G. vagum	ヨレクサ（テングサ）	(22)
Cryptonemiales			
Dumontiaceae			
Neodilsea	N. yendoana	アカバ	(23)
Grateloupiaceae			
Grateloupia	G. filicina	ムカデノリ	(24)
	G. turturu	ツルツル	(25)
Pachymeniopsis	P. yendoi	アカハダ	(26)
Carpopeltis	C. flabellata	コメノリ	(27)
Endocladiaceae			
Gloiopeltis	G. furcata	フクロフノリ	(28)
Gigartinales			
Sphaerococcaceae			
Caulacanthus	C. okamurai	イソダンツウ	(29)
Gracilariaceae			
Gracilaria	G. verrucosa	オゴノリ	(30)
Gigartinaceae			
Rhodoglossum	R. pulchrum	アカバギンナンソウ	(31)
Chondrus	C. ocellatus	ツノマタ	(32)
	C. yendoi	エゾツノマタ（クロバギンナンソウ）	(33)
Rhodymeniales			
Champiaceae			
Lomentaria	L. catenata	フシツナギ	(34)
Ceramiales			
Ceramiaceae			
Ceramium	C. kondoi	コンドウイギス	(35)
Rhodomelaceae			
Polysiphonia	P. morrowii	モロイトグサ	(36)
Chondria	C. crassicaulis	ユナ	(37)
Laurencia	L. glandulifera	ナナソゾ	(38)
Symphyocladia	S. latiuscula	イソムラサキ	(39)

*Numerals in parentheses represent corresponding numeral in Figs. 1-3.

実験結果及び考察

220～360mμ における吸収スペクトルを Fig. 1（緑藻），Fig. 2（褐藻）及び Fig. 3（紅藻）に示した。Fig. 3 に示した [illegible] 紅藻の抽出液 [illegible] 320～3[illegible]0 mμ 附近 [illegible]

これと同時に 260〜270 mμ（イソムラサキのみは 300 mμ）にも吸収極大または inflection を示すが，一般的にこの吸収は 320〜330mμ の吸収にくらべてはるかに小さい。ただしイギス（35），モロイトグサ（36）及びイソムラサキ（39）のみは短波長の吸収が長波長の吸収より大きくなつているが，しかし明らかに 320

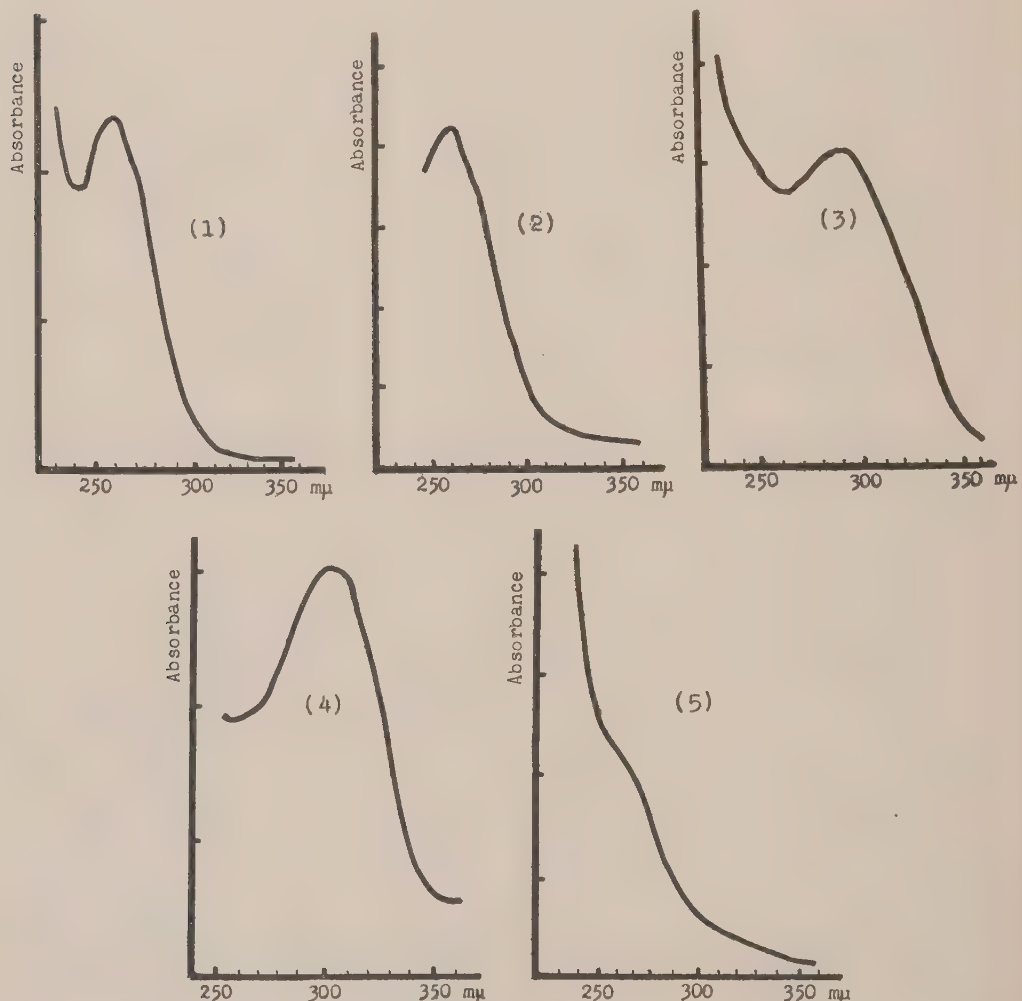
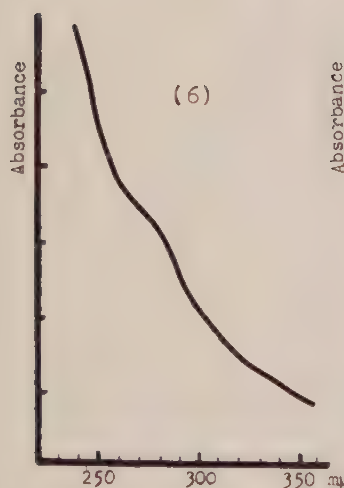
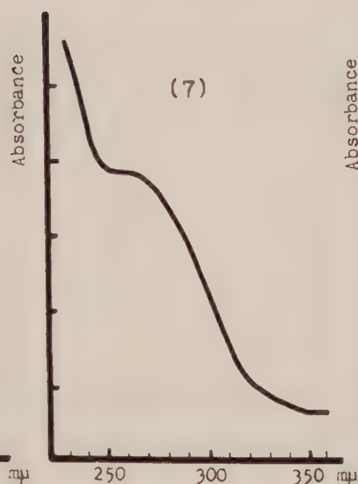
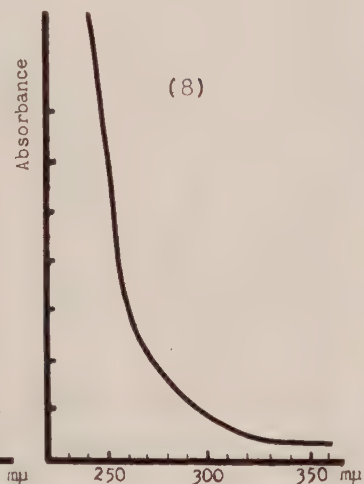
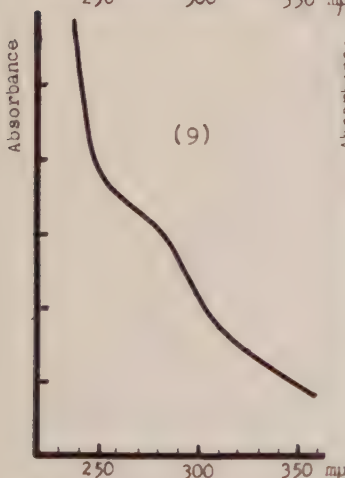


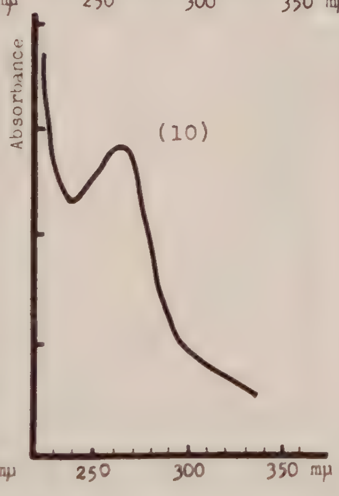
Fig. 1. Ultraviolet absorption spectra of green algae
Numerals in parentheses refer to Table 1.

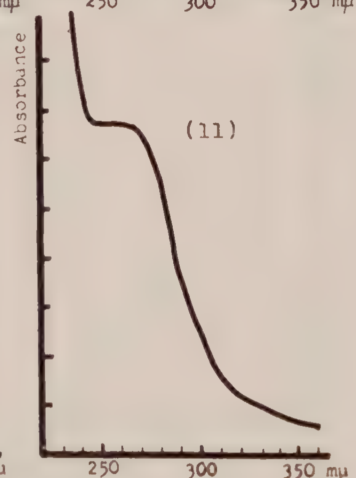

(6)
Absorbance
250
300
350 mμ

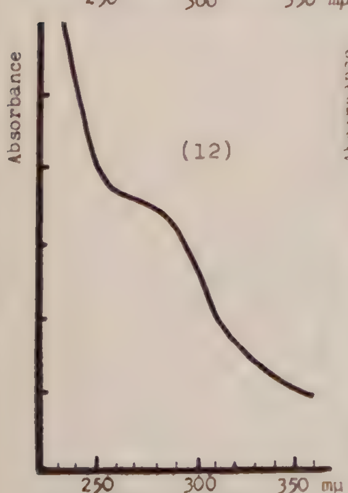

(7)
Absorbance
250
300
350 mμ

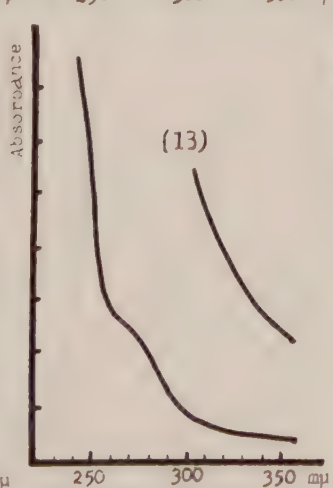

(8)
Absorbance
250
300
350 mμ

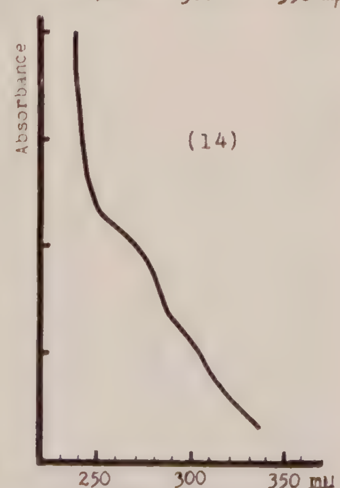

(9)
Absorbance
250
300
350 mμ


(10)
Absorbance
250
300
350 mμ


(11)
Absorbance
250
300
350 mμ


(12)
Absorbance
250
300
350 mμ


(13)
Absorbance
250
300
350 mμ


(14)
Absorbance
250
300
350 mμ

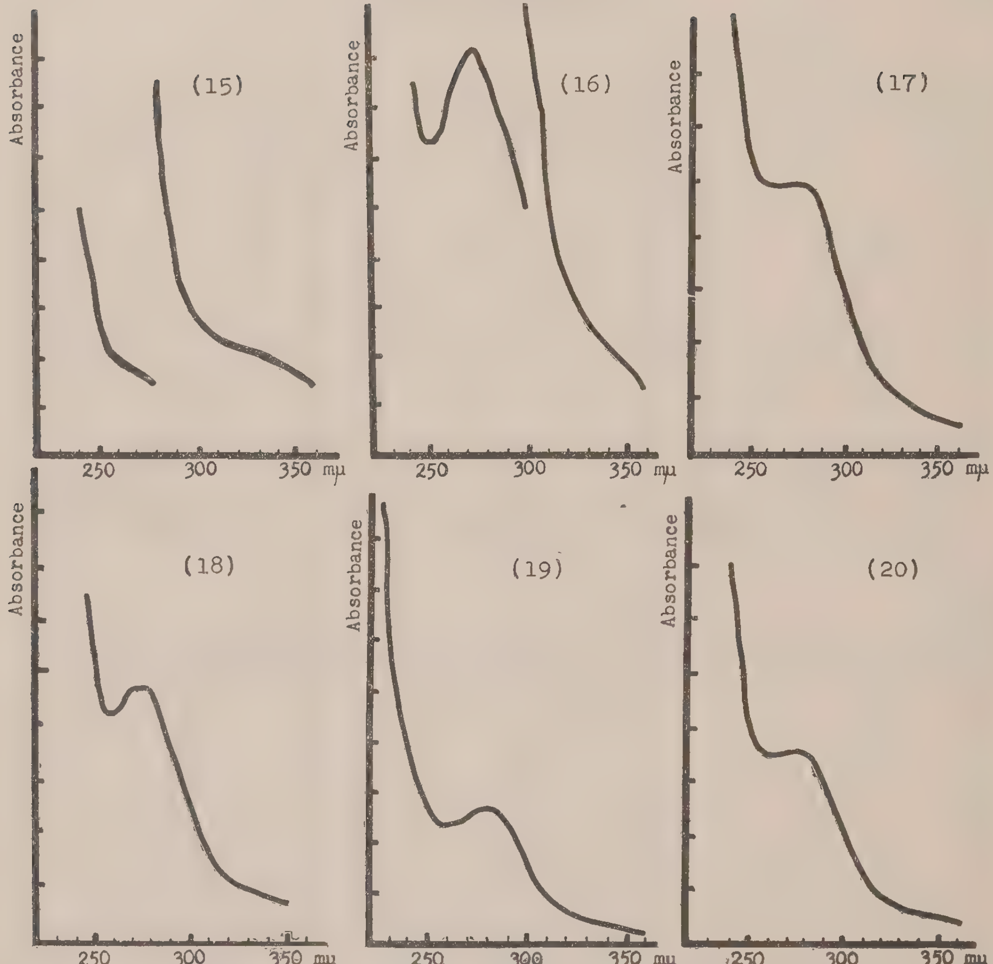
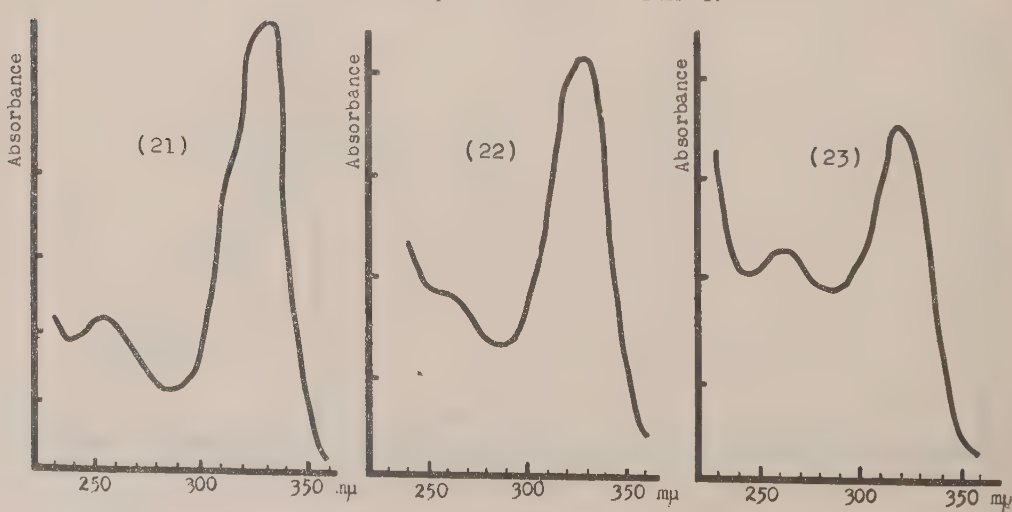
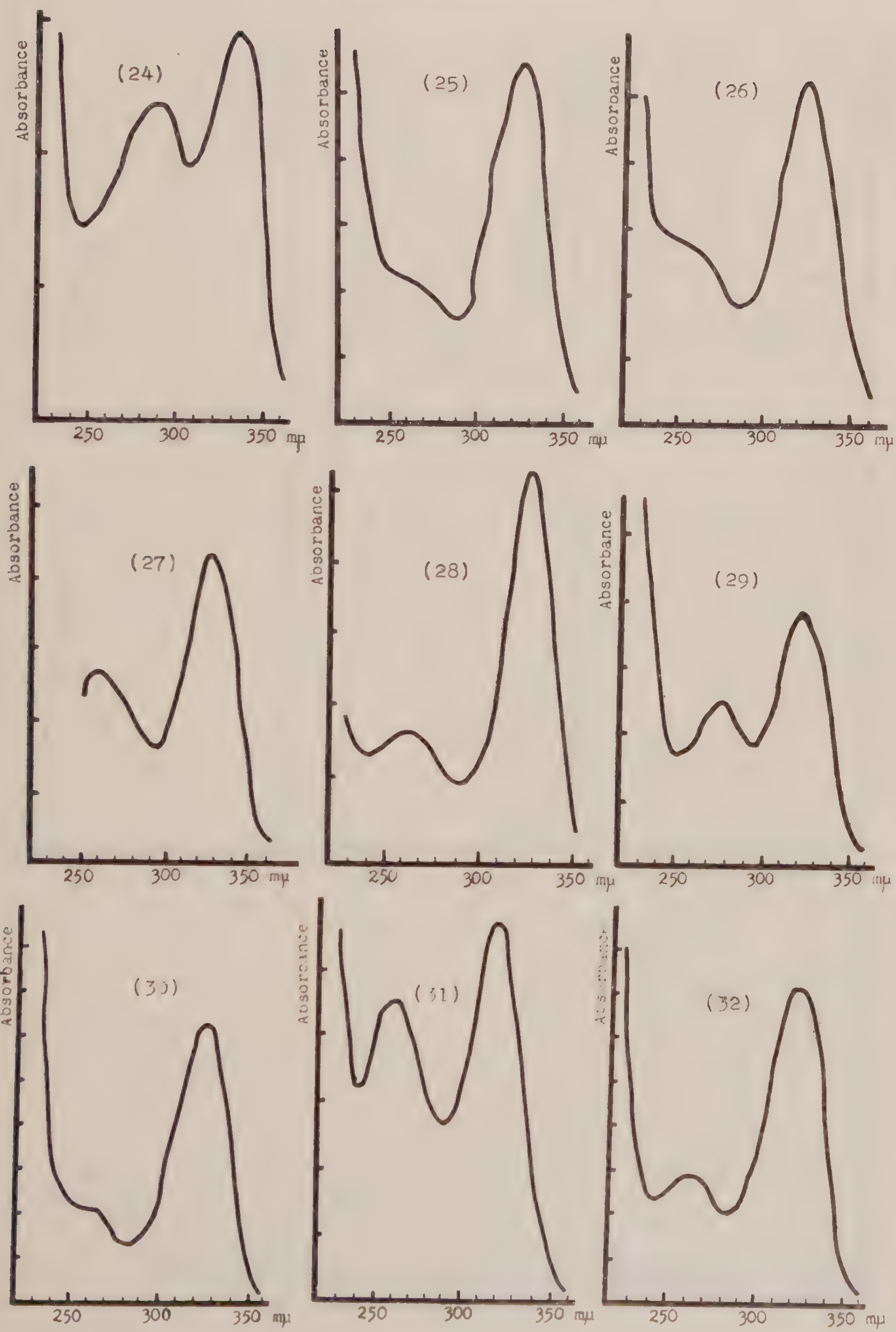


Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of brown algae
Numerals in parentheses refer to Table 1.




(24)
(25)
(26)
(27)
(28)
(29)
(30)
(31)
(32)
Absorbance
250
300
350 mμ

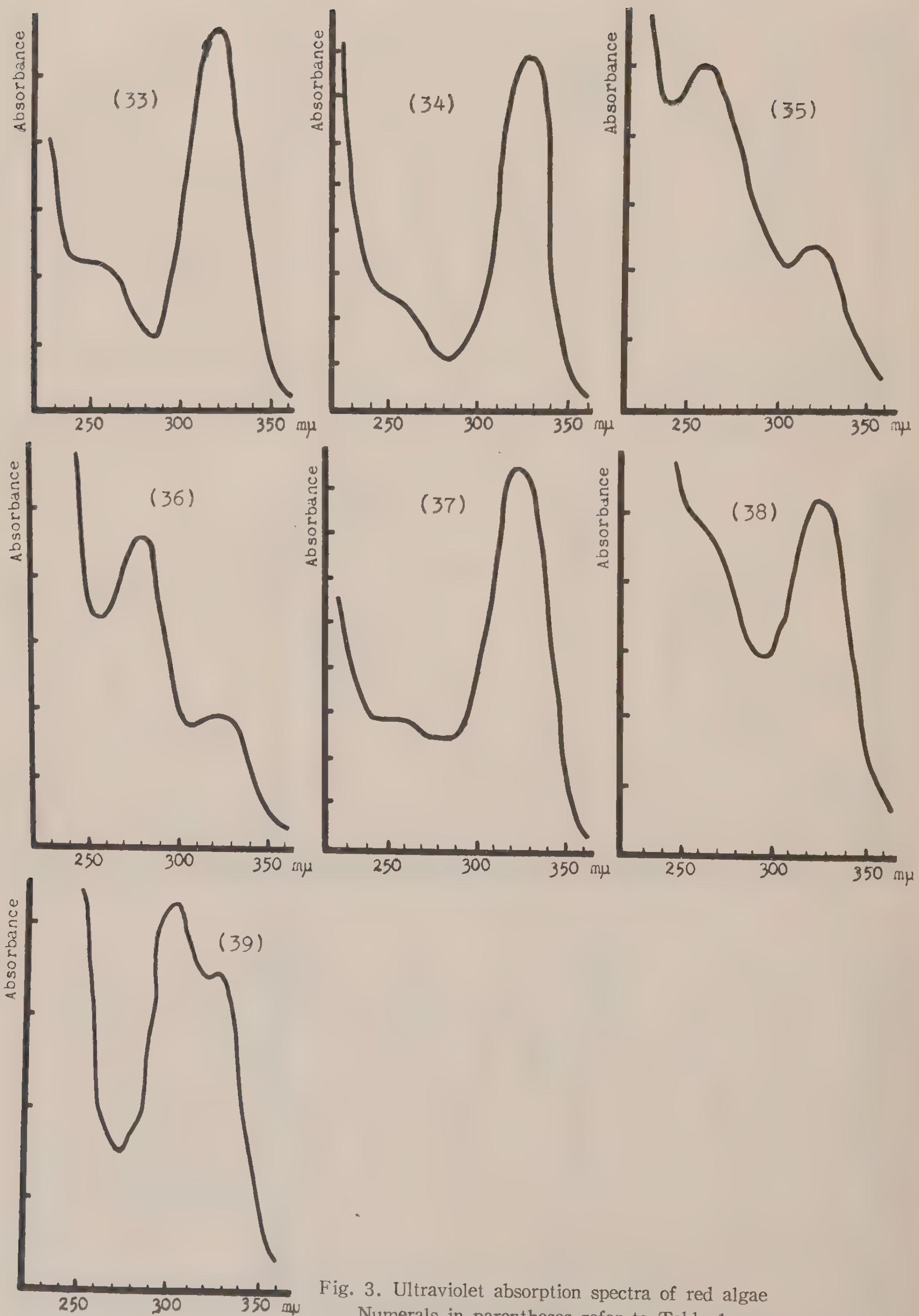


Fig. 3. Ultraviolet absorption spectra of red algae
Numerals in parentheses refer to Table 1.

〜330mμ の特有な吸収を認めることが出来る。

一方これに反して Fig. 1 及び Fig. 2 に示したように緑藻及び褐藻の抽出液の場合は一般的に 260〜270mμ〔緑藻のシオグサ（3）及びジュズモ（4）は 290mμ 附近〕に1個の吸収極大または inflection を示すのみである。紅藻に見られるような 320〜330mμ の吸収は全く認めることが出来ないので，緑藻及び褐藻は吸収スペクトル的に紅藻とはつきり区別することが出来る。

この紅藻のみが示す 320〜330mμ における吸収は乾燥後5カ月間保存したイギスではなお明らかに認めることが出来たが，6年間乾燥保存したオゴノリでは認めることが出来なかつた。

またこの吸収は水またはエタノールを使用しても過塩素酸抽出の場合と同様に抽出される。

次にこの紅藻に特有な 320〜330mμ に極大吸収を示す物質の本体であるか，この物質は所謂紅藻色素とは無関係のものであるらしい。吾々の吸収測定に用いた溶液は殆んど無色であるが，なお Fig. 3 に示したような明瞭な紫外吸収を示している。また Hattori, Fujita[7] 及び Fujiwara[5] の色素蛋白質の吸収スペクトルと比較すると，色素の場合は 280〜285mμ, 310mμ, 360〜370mμ にそれぞれ吸収を示すが，可視部の吸収にくらべ著るしく小さく，また極大吸収の波長も吾々の測定した 320〜330mμ とは異つている。

また最近 Yaphe[11] は各種紅藻中のカラゲニンの含有量を測定し差異のあることを認め，カラゲニンとアガロースの分布をしらべ（特にウシケノリ目，ダルス目及びイギス目は，カラゲニンもアガロースも存在しない），紅藻分類の一助としようと試みているが，吾々の見出した 320〜330mμ の吸収極大は各目，科による差異が殆んど認められないので，紅藻全般について見られる特異現象と言えよう。

なおこの 320〜330mμに極大吸収を示す物質はアルカリに対して抵抗性弱く，活炭性によく吸着され，Fig. 4 に示したようにイオン交換樹脂により極大吸収位置を異にする2つの物質に分離[12] することに成功したが詳細は目下研究中である。

また緑藻，褐藻，紅藻を通じて見られる 260〜270mμ の吸収はヒジキ[13] について報告したように酸可溶性ニュクレオチッドに基因する吸収と考えられる。紅藻の場合は活性炭よりの分別溶出により 320〜330mμ の吸収と 260〜270 mμ の吸収はある程度分別可能である。

いずれにせよ紅藻の抽出液のみが 320〜330m μ に特異な極大吸収を示すことは注目に値し，さらにこの吸収を示す物質と植物学的な分類との関係の解明は興味のある問題であると思われる。

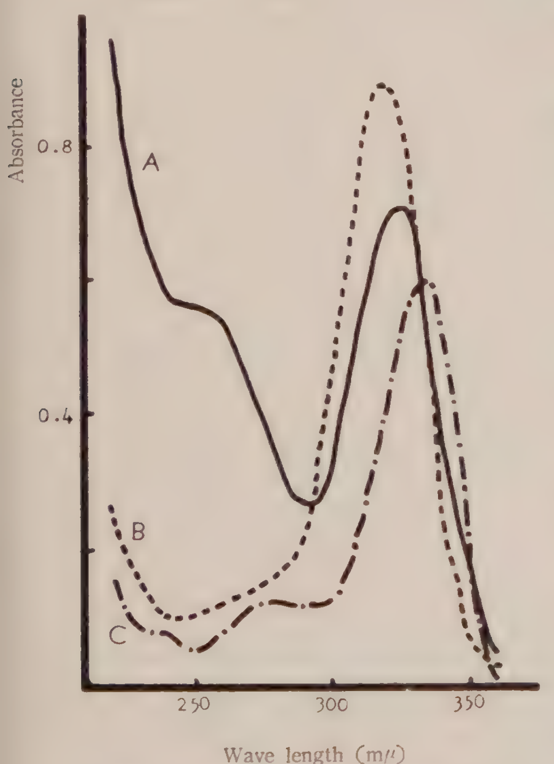


Fig. 4. Ultraviolet absorption spectra of purified compound isolated from Chondria crassicaulis using Amberlite IRA 401
A: Crude extract
B: Nonabsorbed fraction
C: Absorbed fraction

総　　括

緑藻5種，褐藻15種，紅藻19種について過塩素酸抽出液を調製し，その紫外吸収スペクトルを測定した。

緑藻，褐藻，紅藻を通じ一般的に 260〜270 mμ に吸収極大または inflection を示す。

紅藻のみはこの他に 320〜330mμ に非常に明瞭

に特異的な吸収極大を示す。

この 320〜220mμ の吸収は所謂紅藻色素とは無関係のもので，さらに2成分に分別出来る。

本研究に当り海藻の採集及び分類に関しお世話になつた本学部植物学教室の正置富太郎助教授，藪凞助手並びに実験に協力された佐々木健氏に厚く感謝いたします。

研究費の一部は昭和34年度文部省科学研究費によつた。

文　　献

1) 広瀬弘幸 (1959). 藻類学総説 160p. 東京; 内田老鶴圃.
2) Strain, H.H. (1950). *Mannual of Phycology*. 253p. Waltham; Chronica Botanica Company.
3) Kylin, H. (1910). *Z.physiol. Chem.* **60**, 169.
4) Haxo, F.T., OhEocha, C. & Norris, P. (1955). *Arch. Bicchem. Biophys.* **54**, 162-173.
5) Fujiwara, T. (1955). *J. Biochem.* (Japan) **42**, 411-417.
6) 五十嵐・細谷 (1958). 北大水産彙報 **8**, 314-318.
7) Hattori, A. & Fujita, Y. (1959). *J. Biochem.* (Japan). **46**, 903-909.
8) OhEocha, C. & Haxo, F.T. (1960). *Biochem. Biophys. Acta* **41**, 516-520.
9) Tseng, C.K. (1945). *Science* **101**, 597-602.
10) Bidwell, R.G.S. (1958). *Can. J. Botany* **36**, 337-349.
11) Yaphe, W. (1959). *Can. J. Botany* **37**, 751-757.
12) 辻野 (1961). 北大水産彙報. **12**, 59-65
13) 斎藤・辻野 (1960). 日本水産学会年会講演発表.

海藻の特殊成分の研究 II

紅藻特有成分の抽出及び分離

辻 野 勇
(北海道大学水産学部水産化学教室)

Studies on the compounds specific for each group of marine algae. II

Extraction and isolation of characteristic ultraviolet absorbing material in Rhodophyceae

Isami TSUJINO

Abstract

Four species of red algae (Neodilsea yendoana, Chondrus ocellatus, Chondria crassicaulis and Laurencia glandulifera) were homogenized and extracted with perchloric acid or ethanol followed by absorption with active carbon.

Ultraviolet-absorbing material was eluted from carbon with ethanol-ammonia mixture and fractionated by the use of Dowex 1 or Dowex 50 ion exchange resin. By the results of this column chromatography, ultraviolet absorbing material was separated into two fractions. One had an absorption maximum at 318 mμ and the other at 332 mμ. The maximum absorptions of the compouds were caused to disappear by bromination and caused to migrate to short wave length by sodium hydroxide.

前報[1]において各種海藻の過塩素酸抽出液の紫外吸収スペクトルを測定した結果，紅藻のみは共通して著るしく特異的な極大吸収を320〜330mμに示すことを見出し，所謂紅藻色素と別種のものであることを報告した。可視吸収スペクトルの測定は一応海藻分類上の目安となることは従来よりよく知られているところであるが，[illegible]紅藻のみこのような特異的紫外吸収物質が存在することに興味をもち一連の研究を続けているが，本報告においては紅藻特異物質の抽出，イオン交換クロマトグラフィー，ペーパークロマトグラフィーによる分離，その他若干の性質について検討したので報告する。

実 験 方 法

試料

函館市外七重浜及び茂辺地で採集した新鮮な下記4種の紅藻を使用した。

アカバ (Neodilsea yendana)，　ツノマタ (Chondrus ocellatus)，

ユ　ナ (Chondria crassicaulis)，　オオソゾ (Laurencia glandulifera)．

抽出法

水洗した海藻（ツノマタ，ユナ，オオソゾ）を10%過塩素酸（1.5〜3倍量）と共にホモゲナイザーでよ[illegible] 2,000r.p.m. [illegible] 535 (Johns-Manville 製）を併用して吸引濾過し，殆んど透明な抽出液を得る。

アカバは同量のエタノールを用いて過塩素酸の場合と同様な操作を行つて抽出し，減圧で濃縮後同量のエ

タノールを加えて不純物を沈澱させ上清は減圧でアルコール留去後酢酸鉛及び塩基性酢酸鉛で処理し，上清を硫化水素で脱鉛し更に濃縮後アルコール処理をくりかえして可溶部を集める。40°C 以下で濃縮しアルコールを留去後水に溶解し次の活性炭吸着に用いた。

活性炭吸着及び溶出

活性炭としては Norit S.X.30 (N.V. Norit-Vereeniging) 及び精製白サギ（武田薬品工業）を特別な前処理を行わずにそのまま使用したが，吸着力に殆んど差異が認められなかつた。

過塩素酸抽出液またはエタノール抽出液（HCl で pH 2 とする）に活性炭を加え，30〜60分室温ではげしくふりまぜ，吸引濾過後水洗を行つて酸性をなくする。

活性炭に吸着された物質の溶出はエタノール・アンモニア・水（25：0.5：74.5 または 45：2：53）の混合液を使用した。320mμ または 330mμ 吸光度を測定して溶出状態を判定し，減圧 40°C 以下で濃縮乾固した。

イオン交換クロマトグラフィー

アニオン交換樹脂としては Dowex 1×10 (Dow Chemical Co.) 及び Amberlite IRA 401 (Rohm & Hass Co.) を，カチオン交換樹脂としては Dowex 50×10 (Dow Chemical Co.) を塩酸及び水酸化ナトリウムでよく洗い，洗液に紫外吸収を認められなくしてから使用した。活性炭よりの溶出液を樹脂に吸着させ水でよく洗い，次に溶離剤を流した。溶離剤としてはアニオン交換樹脂では稀塩酸を，カチオン交換樹脂で稀アンモニアを使用した。溶離状態の判定には 320mμ または 330mμ の吸光度を測定した。

ペーパークロマトグラフィー

東洋濾紙 No. 50 または No. 53 を使用した。展開溶剤としては（1）ブタノール・酢酸・水（4：1：5），（2）フエノール・水（8：2），（3）イソプロパノール・飽和硫安・水（2：79：19）の3種を使用した。展開したクロマトグラムは各部位毎に切り取り，水で溶出し吸収スペクトルを測定した。

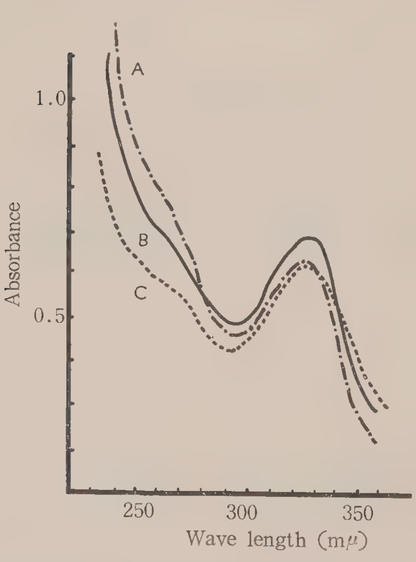


Fig. 1. Absorption spectra of Laurencia glandulifera
A: Extracted with perchloric acid
B: Extracted with water
C: Extracted with ethanol

実験結果及び考察

抽出剤について

抽出剤として水，10%過塩素酸，エタノールを使用してオオソゾについて行つた抽出結果を Fig. 1 に示した。吹収スペクトル的には抽出剤による差は殆んど認められないが，水及び過塩素酸の場合は微細な懸濁物があり，また粘性も著るしく大きいので濾過が非常に困難である。エタノールを用いると粘性が少なく濾過が非常に容易となるが，多量の色素が抽出されるので抽出液の着色度が大となる。

アカバ，アカハダのように粘性の非常に大きなものはアルコール抽出によつてもゲル状態となり濾過が困難であるが，抽出の際に酢酸鉛または塩基性酢酸鉛溶液を加えて操作すると，抽出液中の粘質は鉛塩を形成して凝縮し，また藻体自体も収縮するので濾過が非常に容易となる。この抽出法は粘度の高い試料を大量に扱う場合に適当な方法である。

活性炭処理について

活性炭吸着は一般に非常に良好で室温で30〜60分ふりまぜるだけで吸着率は85〜95%である。一例としてツノマタ1.5 kg を 10%過塩素酸2.8l で抽出し，Norit S.X. 30を30g及び60gを使用して吸着させた場合の濾液の吸収スペクトルを Fig. 2に示した。

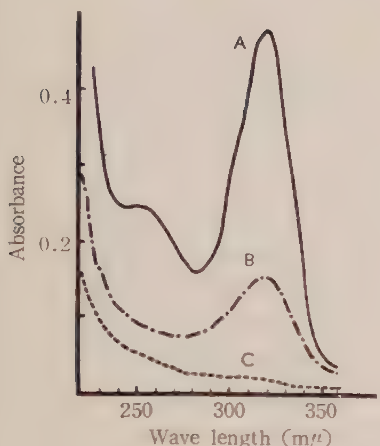


Fig. 2. Absorption spectra of carbon treated filtrate (Chodrus ocellatus)
A : Original
B : Treated with 30 g carbon
C : Treated with 60 g carbon

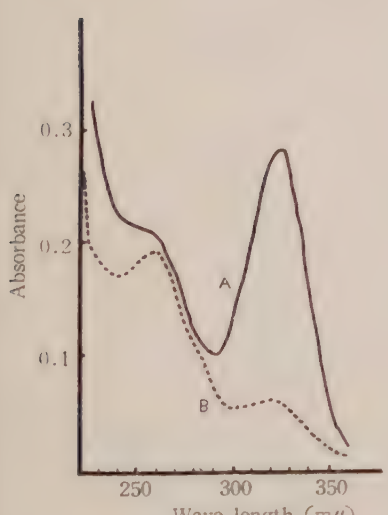


Fig. 3. Fractinal elution from carbon with ethanol-ammonia (Chondria crassicaulis)
A : Fomer fraction
B : Latter fraction

一般に粘性が大きく，懸濁物のある抽出液は吸着率が悪い傾向があるので，濾過に際し十分透明な濾液を得る必要がある。

活性炭よりエタノール・アンモニア・水混合液を用いて吸着された物質の溶出を行うと，320〜330mμ に吸収を示す物質は比較的初期に溶出され，後半になるとむしろ 260mμ 附近に吸収を示す物質が主として溶出されて来る。一例としてユナの抽出液を吸着させた活性炭よりの溶出液を 450ml までと 450〜2450ml までに2分し，濃縮後その吸収スペクトルを測定した結果を Fig. 3に示した。

この結果より 320〜330mμ に吸収を示す物質と 260mμ 附近に吸収を示す物質は異つたものであることが知られ，320〜330 mμ の吸収物質を集める場合は比較的早く溶出を打切ることが出来る。一般に活性炭よりの溶出率は吸着液に対し45〜60%の収量であつた。

イオン交換クロマトグラフィーについて

活性炭よりの溶出液は減圧 40°C で乾固し，再び水に溶解して不溶物を除き，Dowex 1 (Cl') (ユナ) 及び Dowex 50 (H˙) (ソゾノマタ，アカバ，オオソゾ) を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行つた。溶離状態の判定には 320mμ または 330

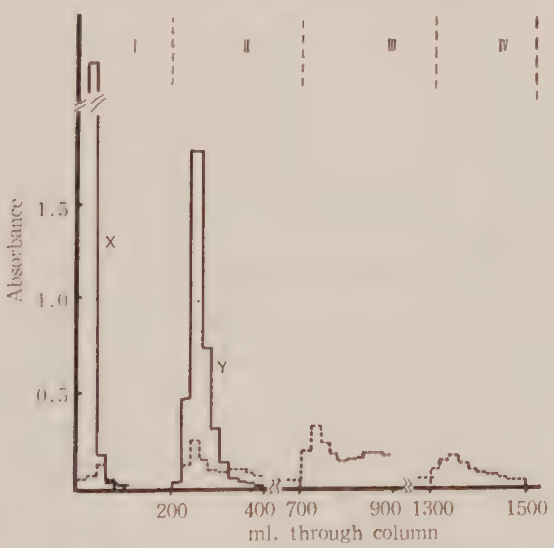


Fig. 4. Separation of ultraviolet absorbing material using anion exchanger (Chondria crassicaulis)
Exchanger: Dowex 1 Column: 10×180mm
Solvent: I, water. II, 0.003M-HCl
III, 0.02M-NaCl+0.01M-HCl
IV, 0.2M-NaCl+0.01M-HCl
Yield: X 55.7% Y 27.0%
—— : Determined at 320 mμ
---- : Determined at 260 mμ

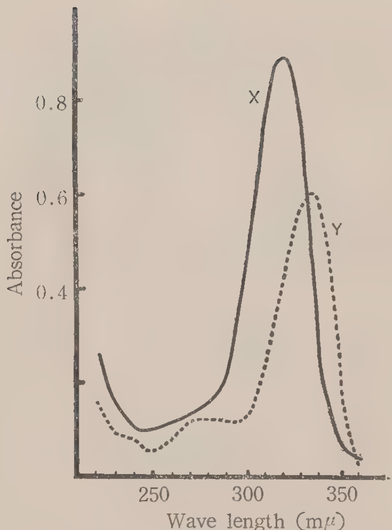


Fig. 5. Absorption spectra of X and Y isolated from Chondria crassicaulis

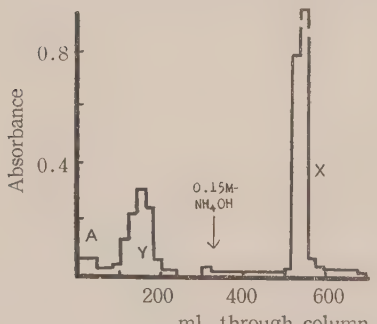


Fig. 6. Separation of ultraviolet absorbing material using cation exchanger (Chondrus ocellatus)
Exchanger: Dowex 50
Column: 11×180 mm
Yield: A 2.9%, Y 17.1%
X 80.1%
A and Y were determined at 330 mμ and X at 320 mμ.

mμ の吸光度の測定によつた。その結果は Fig. 4，6～8に示した。

ユナの場合にはアニオン交換樹脂を使用すると λmax 318mμ の物質(以下X物質と呼ぶ)は樹脂に吸着されないで通過する。次に 0.003M.HCl によつて λmax 332～333mμ の物質（以下Y物質と呼ぶ）が溶離されて来る。しかしさらに塩素イオンの濃度を高くしても 320～330mμ に吸収を示す物質は最早存在しないが，260mμに吸収を示す物質が溶離されて来るので，0.01 M.HCl + 0.02M.NaCl 以降ではおそらく主として酸可溶性ニュクレオチッドが溶出されるのであろう。さらに多量の試料を Amberlit IRA 401 (Cl') 16×330mm のカラムで処理してみると，0.003M.HCl によりY物質が溶出した後につづいてニュクレオチッド系物質が溶出されて来るのが認められる。

別なユナ試料2点について同様にアニオン交換樹脂を使用して定量を行つて見ると，X物質とY物質の比率はそれぞれ85%：10%，63%：24%であつた。

このようにして分離したX，Y両物質の吸収スペクトルを Fig. 5に示した。

さらにこのX，Y両物質を Dowex 50 (H') を使用するカチオン交換クロマトグラフィーを行つてみると，アニオン交換の場合とは逆にX物質は Dowex 50 に吸着されるがアンモニアで

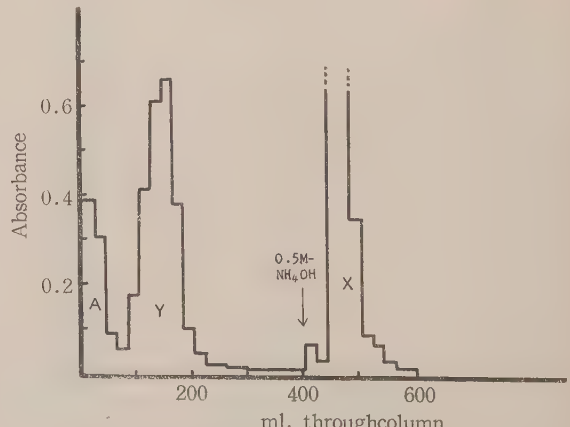


Fig. 7. Separation of ultraviolet absorbing material using cation exchanger (Neodilsea yendoana)
Exchanger: Dowex 50 Column: 14×70 mm
Yield: A 7.1% Y 21.8% X 59.8%
A and Y were determined at 330 mμ and X at 320 mμ.

溶離され，Y物質は水で溶離して来る。

ツノマタ，アカバ，オオソゾの場合も，Dowex 50 を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行つてみる

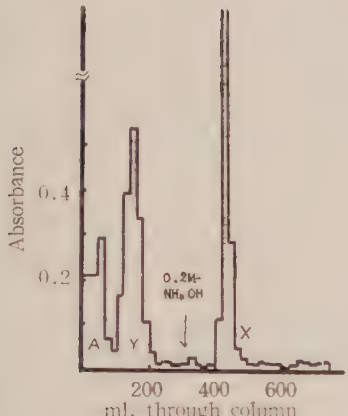


Fig. 8. Separation of ultraviolet absorbing material using cation exchanger (Laurencia glandulifera)
Exchanger: Dowex 50,
Column: 10×150 mm
Yieled: A 9.5% Y 25.8%
X 51.3%
A and Y were determined at 330 mμ, and X at 320 mμ.

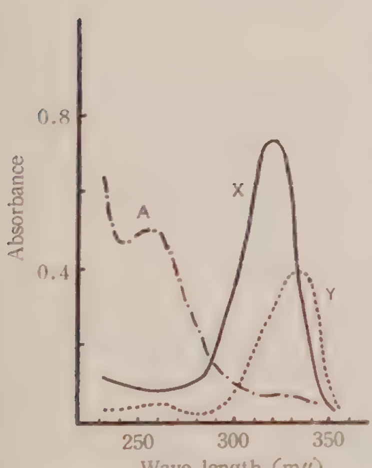


Fig. 9. Absorption spectra of X, Y and A isolated from Chondrus ocellatus

と，Fig. 6〜8 に示したようにやはりX，Yの２成分が存在する。しかし水で溶離した際にY物質より先に出現するA物質は Fig. 9 に示したように 260mμ に吸収極大を示すので，おそらくニュクレオチッド系の物質であろう。

以上のイオン交換クロマトグラフィーの結果，紅藻に特有な 320〜330mμ に吸収を示す物質中には吸収極大の波長を異にするX，Yの２成分が存在し，しかもX物質がY物質よりも量的に多く存在することが明かとなつた。

しかしながらY物質はいずれの海藻の場合でも殆んど極大吸収の位置に変化はないが，X物質の場合はアカバ及びオオソゾはユナ及びツノマタにくらべ若干極大位置が長波長にずれている。この点は精製が不充分なためか，または海藻の種類によりX物質に差があるのかについては今後の研究にまちたい。

ペーパークロマトグラフィーについて

イオン交換クロマトグラフィーにより分離したX，Y両成分は共にニンヒドリン反応陽性物質を含むので，本物質とニンヒドリン陽性物質との関係をペーパークロマトグラフィーにより検討した。

オオソゾのX，Y両成分を一応 Dowex 50 により分離した後両者を合一しクロマト試料として使用した。溶剤（1），（2）を使用して展開し，ガイドストリップによりニンヒドリン反応をしらべ，クロマトグラムはそれぞれ Fig. 10 に示した位置で切り取り，水 10m*l* で24時間抽出し 330mμ における吸光度を測定した。

この結果溶剤（1）においてはニンヒドリン呈色と紫外吸収の存在位置は一致するが，溶剤（2）を使用するとニンヒドリン陽性物質とX，Y両成分は全く異つたものであることが判明した。

さらに溶剤（2）によるクロマトグラムより溶出したフラクションA＋B及びCについて Dowex 50 によるイオン交換を行つてみると，A＋BはX物質を，Cは主としてY物質を含むことが認められた。一方溶剤（1）によるクロマトグラムのEはX，Y両成分を共に含[illegible]

ユナの場合も同様なことが認められた。

この結果X，Y両物質はアミノ酸とは別個のものであることが確定し，80%フエノールはアミノ酸との分離及びX，Y相互の分離に適した溶剤と認められる

X，Y物質の２，３の性質について

本物質はまだアミノ酸等の夾雑物を含んでいて，イオン交換により分離したX，Y[illegible]

エーテル，酢酸エステル，ブタノールに不溶，含水エタノール，含水メタノールに可溶であるが，アルコー[illegible]純度を上げることが出来る。

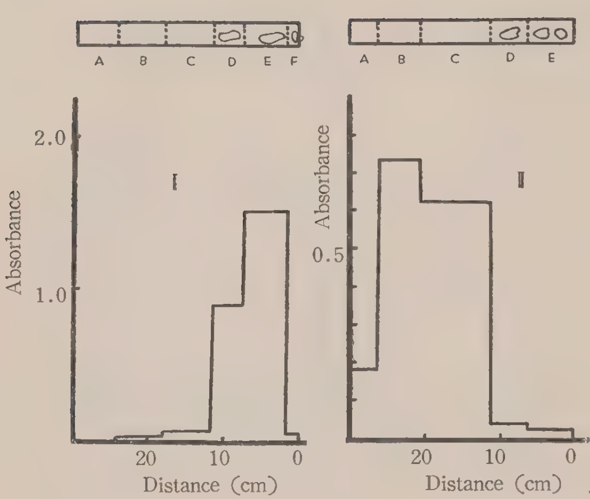


Fig. 10. Paper chromatographic separation of ultraviolet absorbing material
Upper column showed the spots colored with ninhydrin.
Downward column showed the ultraviolet absorbing area on chromatogram.
(I): Developed with solvent (1)
(II): Developed with solvent (2)

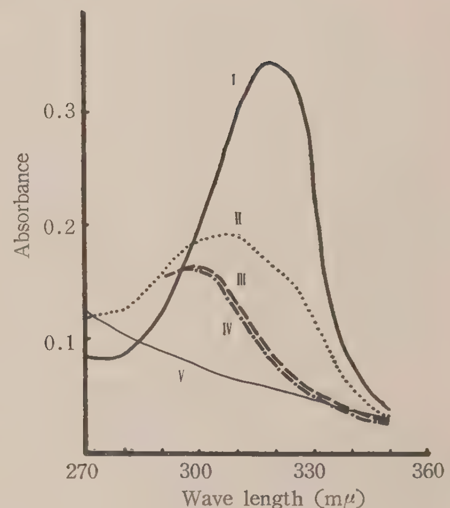


Fig. 11. Absorption spectra in sodium hydroxide solution
I: In water
II: In 0.1M-NaOH, after 1.5 hr
III: In 0.1M-NaOH, after 4 hr
IV: In 0.1M-NaOH, after 55 hr
V: In 0.1M-NaOH, after 1.5 hr, 100°C

室温においてブローム水と反応し特有な紫外吸収は完全に消失する。

また室温において水及び 0.5M・アンモニアに溶解するとX，Y共に極大吸収の位置のずれは見られないが，0.1M・塩酸では極大位置が若干短波長へ移動する傾向がある。しかし0.1M・水酸化ナトリウムに溶解すると，溶解後の時間の経過と共に吸光度の低下及び極大位置の短波長への移動が見られ，55時間後にはX物質は 297mμ 附近に，またY物質は 308mμ 附近に吸収極大を示すようになる。この変化の様子は Fig. 11 に示した。

この移動した吸収は塩酸の添加により pH をもどしても変らないことより，水酸化ナトリウムにより不可逆な変化をうけたものと考えられる。

さらに以上の溶液を封管中で 100°C，1.5時間加熱すると，水及び 0.1 M・塩酸の場合は若干の吸光度の低下がみられるのみで吸収スペクトルの型に変化は認められないが，0.5 M・アンモニア及び 0.1 M・水酸化ナトリウムの場合は特有な吸収が完全に消失する。

以上の結果より本物質の取扱いはアルカリ性で放置すること，特に水酸化ナトリウムとの接触は十分に注意を要する。

総　　括

ツノマタ，アカバ，ユナ，オオソゾの4種の紅藻につき特有な紫外吸収物質の検索を行つた。

本物質は海藻の過塩素酸抽出液またはアルコール抽出後酢酸鉛，アルコール処理を行つた抽出液より活性炭に吸着されエタノール・アンモニア混合液で溶出される。

イオン交換クロマトグラフィーにより λmax 318mμ のX物質と λmax 332 mμ のY物質に分別される。X物質はアニオン交換樹脂に吸着されないが，カチオン交換樹脂に吸着され，Y物質は逆にアニオン交換樹脂

に吸着されカチオン交換樹脂に吸着されない。量的にはX物質の方が常に多く存在する。

80%フエノールを使用したペーパークロマトグラフィーによりX，Y物質はアミノ酸と区別し得る。

ブローム水の作用により特有な紫外吸収は消失し，0.1 M・水酸化ナトリウム溶液中で吸収極大は短波長へ移動する。0.5 M・アンモニアまたは0.1 M・水酸化ナトリウム液と100°C，1.5時間の加熱により，X，Y両物質共に紫外吸収が消失する。

本研究に当り御指導，御鞭撻をいただいた斎藤恒行教授に深く感謝いたします。また実験に協力された佐々木健氏に謝意を表します。

文　　献

1) 辻野・斎藤（1961）．北大水産彙報 12，49-58．

水産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分 III

貝類斧足筋と貝柱筋中の酸可溶核酸成分について

新井健一・古河倶江・斎藤恒行
（北海道大学水産学部水産化学教室）

III. Acid-soluble Nucleotides in Muscle of Marine Invertebrates

Acid-soluble nucleotides in foot and adductor muscles of seashells

Ken-ichi ARAI, Tomoe FURUKAWA and Tsuneyuki SAITO

Abstract

Studies were made of the changes in acid-soluble nucleotides of foot and adductor muscles of ark-shell and of surf clam which were held at -6°C. The results may be summarized as follows:

(1) In both shells, the total amounts of acid-soluble nucleotides were observed to be greater in the adductor than in the foot muscle.

(2) On sampling the adductor muscle, splitting of fairly amounts of ATP was observed. But on rapid freezing by liquid air before artificial opening of the shell this happening was avoided.

(3) In general, changes in acid-soluble nucleotides during cold storage in the adductor were more rapid than in the foot muscle.

著者等は，先にホッキ貝，アカ貝の斧足筋肉及びホタテ貝，アワビの貝柱筋それぞれの中の酸可溶核酸成分量及びその変化について，検討し報告した[1,2]。しかし，斧足筋及び貝柱筋は，その運動のしかたまたは生理的機構の違いから考えて，全く同じ観点に立つてとりあげ，比較検討するわけにはゆかないものである。もし両筋肉中の酸可溶核酸成分量及びその変化の比較をするとき，または貝の種類による比較を検討するときには，厳密な意味で疑問が残される

ホッキ貝及びアカ貝は二枚貝であつて，その貝類構造の中に斧足筋及び貝柱筋の両方を含んでいるものである。従つて，二枚貝における両筋肉中の酸可溶核酸成分を検討する事は，以上述べた疑問を解決するためにも必要な事となるので，本研究を行つた。

実験方法

試料としては，二枚貝のホッキ貝（うば貝，*Spisula sachalinensis*）及びアカ貝（*Anadara broughttoni*）の必ず生存状態にあるものを選んだ。いずれも函館近海産で，水揚後数時間以内のものである。斧足筋及び貝柱筋の採取，酸可溶核酸成分の抽出，イオン交換クロマトグラムによる分析等については，先に報じた[1,2]。その他に，筋肉に加わる刺激を少なくする目的から液体空気を使用したが，この場合は，生存状態で閉殻している個体をそのまま液体空気中に投入し，凍結後貝殻を破壊し内部の筋肉部をわつて採取した。

実験結果

ホッキ貝筋肉中の酸可溶核酸成分のイオン交換クロマトグラムによる分析の類型を，前報にすでに掲げた

本研究は水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究　第XI報とする。なお研究費の一部を文部省総合研究（軟体動物エキスに関する研究）によつて支弁した。ここに感謝する。

Table 1. Seasonal variations in the amounts of adenine nucleotides in fresh foot and adductor muscles of surf clam

	Kinds of muscle	μ mole/g muscle wet wt.					Month
		Inosine	AMP	ADP	ATP	Total	
1	Foot muscle	0	0.33	0.59	3.17	4.09	Apr.
	Adductor muscle	0	1.66	1.05	1.14	3.85	
2	Foot muscle	0	0.33	0.50	3.98	4.81	May
	Adductor muscle	0	1.28	0.90	3.92	6.10	
3	Foot muscle	0	0.63	1.17	3.87	5.67	July
	Adductor muscle	0	1.78	2.07	3.29	7.14	
4	Foot muscle	0	1.01	1.31	4.33	6.65	Sept.
	Adductor muscle	—	—	—	—	—	
5	Foot muscle	0	0.50	1.10	4.16	5.76	Nov.
	Adductor muscle	0	1.55	1.20	3.38	6.13	
6	Foot muscle	0	0.52	0.50	4.76	5.78	Dec.
	Adductor mscule	0	2.23	1.35	3.93	7.51	
7	Foot muscle	0	0.22	0.86	3.89	4.97	Dec.*
	Adductor mscule	0	0.55	1.79	4.64	6.98	

* Muscles were taken off after rapid freezing by liquid air

[illegible]1959～1960[illegible]ホッキ貝の[illegible]筋及び貝柱筋中の酸可溶核酸成分量を[illegible]，その結果を第1表[illegible]ホッキ貝[illegible]17回[illegible]考えられる7例をのせた。第1表によると，一般に貝柱筋肉中の酸可溶核酸成分の総量は斧足筋に比較して多いにかかわらず，ATP は分解をうけ易く，ADP と AMP がそれぞれ多量に見出された。この事は，生存状態の二枚貝から筋肉を切りとるためには，どうしても貝柱筋に強い刺激が加わり，筋収縮をひきおこすためであると考えられる。それで，生存状態の二枚貝を，先に述べた方法どおり，液体空気中に浸漬して凍結後，貝殻を破壊してのぞき，筋肉をけずりとつて分析に供した。この結果を第1表の7番目の試料に示したが，ATP の分解が最少にとどめられていて，AMP は対応的に少なくなつており，この値はおそらく，生存状態の筋肉中の値にかなり近似しているものと考えている。

また，酸可溶核酸成分の総量（ATP＋ADP＋AMP）には季節的な変動があつて，一般に4～6月には3.5～5.2 μ mole/g 筋肉湿重量（6例）で少なく，7～9月には 5.8～6.4 μ mole/g（7例）で多くなり，11～12月には 6.0～5.0 μ mole/g（4例）で減少の傾向を示している。

次に，同じく1959～1960[illegible]その結果を第2表に示した。アカ貝筋肉については16個体の分析を行つたが，そのうち典型と考えうる6例をのせた。第二表によると，ホッキ貝筋肉においてみられたように，一般に貝柱筋肉中の酸可溶核酸成分の総量は，斧足筋に比較して多いが，ATP は分解をうけて ADP 及び AMP に変化している。

また同様に，酸可溶核酸成分の総量には季節的な変動[illegible]4[illegible]4.5 μ mole/g 筋[illegible]1

Table 2. Seasonal variations in the amounts cf adenine nucleotides in fresh foot and adductor muscles of ark-shell

	Kinds of muscle	μ mole/g muscle wet wt.					Month
		Inosine	AMP	ADP	ATP	Total	
1	Foot muscle	0	0.51	0.88	3.33	4.72	Apr.
	Adductor muscle	0	1.74	2.16	1.35	5.25	
2	Foot muscle	0	1.29	1.50	2.13	4.92	July
	Adductor muscle	—	—	—	—	—	
3	Foot muscle	0	1.80	1.29	1.98	5.07	Sept.
	Adductor muscle	—	—	—	—	—	
4	Foot muscle	0	1.29	1.05	3.54	5.88	Oct.
	Adductor muscle	—	—	—	—	—	
5	Foot muscle	0	1.37	0.99	3.09	5.45	Nov.
	Adductor muscle	0	2.46	2.27	3.00	7.73	
6	Foot muscle	0	0.75	1.05	4.86	6.66	Dec.
	Adductor muscle	0	2.46	3.45	1.50	7.41	

例）で少ないが，7～9月には 5.0 μ mole/g（4例）となり，10～12月 5.6～6.7 μ mole/g（7例）と増加の傾向を示している。

次に，新鮮ホッキ貝の斧足筋及び貝柱筋を -6°C 附近の温度で放置し，凍結貯蔵中における筋肉中の酸可溶核酸成分の変化を検討し，比較した。その結果を第1図に示した。第1図によると，先に述べたように貝柱筋肉中の ATP はかなり分解している傾向がみられ，斧足筋に比べて ADP 及び AMP が多いから，厳密な意味において，この値を対照として変化の速度や状態を比較するわけにはゆかないと考えている。しかしこの条件を考慮に入れたとしても，両筋肉中で起る酸可溶核酸成分の動的変化即ち ATP の分解，ADP，そして AMP の生成及び減少，対応的な Inosine の一方的な蓄積という現象は[1]，かなり貝柱筋の場合に速やかに起つている事がわかる。

また，新鮮アカ貝の斧足筋及び貝柱筋を -6°C 附近で放置し，凍結貯蔵中における筋肉中の酸可溶核酸成分の変化を検討し，第2図に示した。第2図によると，ホッキ貝においてみられたと全く同様に，貝柱筋中の ATP はかなり分解していて，対照としては不完全な値であるので，斧足筋の場合の変化と厳密に比較するわけにはゆかないが，これら成分の動的変化即ち ATP の分解，ADP の生成及び減少，次いで AMP の蓄積，さらに少量の Adenine の生成の現象は[2]，やはり貝柱筋の場合に速やかに起つている。

考　　察

1年にわたる種々の季節における酸可溶核酸成分量の変動は，おそらく貝の成長（特に筋肉の成長）にともなう筋肉の生理状態の変化即ち，筋肉の化学成分（特に解糖に関連する物質）の変化と密接な関連があるものと考えられる。従つて，厳密な意味においてこれらの問題を解決するためには，グリコーゲン，乳酸等の他，糖燐酸化合物類を同じ筋肉について定量し，同時に対照しつつ検討しなければならないと考えている。また，これらの数値は統計的取扱いをする必要もあるので，この問題に関しては一層の研究を続けている。

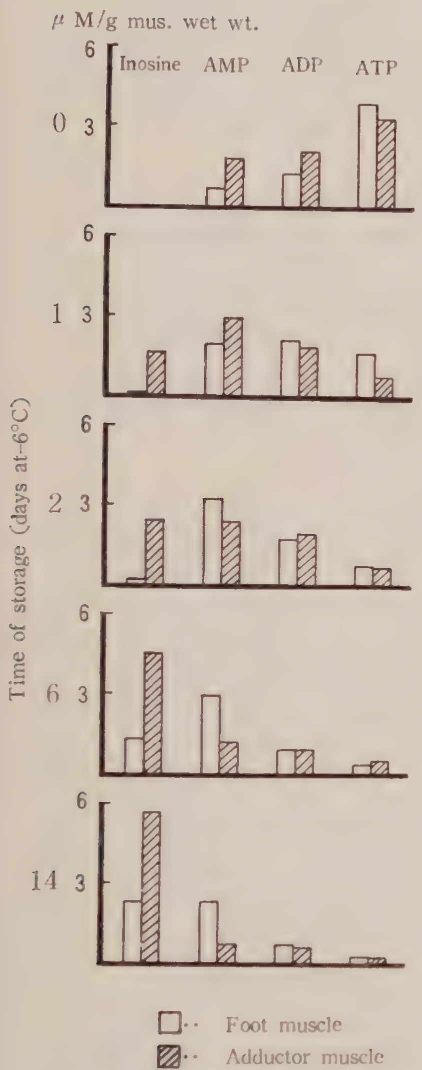


Fig. 1. Comparison of the splitting rates in adenine nucleotides between foot and adductor muscles (surf clam)

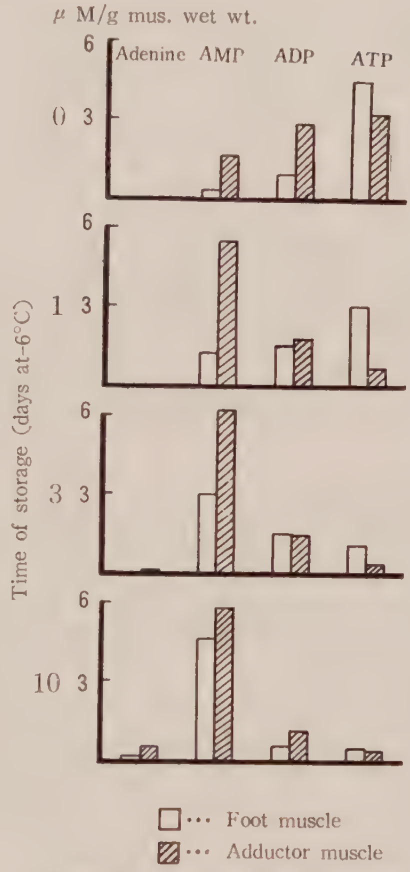


Fig. 2. Comparison of the splitting rates in adenine nucleotides between foot and adductor muscles (ark shell)

一般に貝柱筋中の酸可溶性核酸成分の総量（生理上での筋肉中のATP保存量に近似していると考えている）は，斧足筋のそれに比べて多いのであるが，その値は8～40%の値を示して一定ではなかつた。この事は筋肉の生理状態となんらかの関連を持つものと考えているが，その原因については不明である。

また，貝柱筋は剥離を急ぐ場合，無理な力が加えられる不可避の外力のため，ATPの分解をひき起すが，この損耗は液体空気によつて急速凍結してから剥離する事によつて，かなり少くする事が出来る。これはすでにMommaert[3]及び著者等[4]によつて述べられている事である。

ホツキ貝筋肉中のATPを中心とする酸可溶性核酸成分の変化のしかたは，斧足筋についてはすでに述べた[1]

が，貝柱筋についても全く同じであつて，両筋肉ホモジェネートを粗酵素液とした実験[5] からして，変化の主経路は，ATP→ADP→AMP→（Adenosine）→ Inosine と推定される。アカ貝の場合においても貝柱筋は，すでに報じた斧足筋と同じ変化[2] のしかたであつて，同様な酵素実験[5] から，変化の主経路 ATP→ ADP→ AMP→ Adenine である事が推定される。

要　　約

ホッキ貝及びアカ貝の斧足筋と貝柱筋を −6°C に保つて，筋肉中の酸可溶核酸成分の変化を比較し，検討した。結果は次のように要約出来る。

1) 両貝共，貝柱筋中の酸可溶核酸成分総量（ATP＋ADP＋AMP）は斧足筋に比べて多い。

2) 両貝共，貝柱筋においては，ATP の不可逆の分解が起り，この分解は開殻以前に液体空気による急速凍結を行えば，ある程度ふせぐ事が出来る。

3) 一般に，酸可溶核酸成分の凍結貯蔵中における変化は，貝柱筋の方が斧足筋に比べてかなり速い。

文　　献

1) 新井健一（1960）．北大水産彙報 11，67．

2) 新井健一（1961）．同誌 11，226．

3) Mommaert, W.F.H.M.（1954）．*Nature* 174，1083．

4) 斎藤恒行．新井健一（1957）．日水誌 22，569．

5) 新井健一．古河倶江．斎藤恒行 未発表

石狩川河水の流出によつて湾内にできる潮目の化学的研究

第1報　可溶性有機成分について

小　黒　美　樹
（北海道大学水産学部海藻化学教室）

Chemical Studies on the Current Rip in Ishikari Bay caused by the Ishikari River flowing into that Bay

1. On the soluble organic matter

Miki OGURO

Abstract

The writer has carried out investigation of the soluble organic matter in the water on the form of the current rip in Ishikari Bay caused by the inflow of the Ishikari River.

The results obtained are summarized as follows:

1. Soluble organic matter in the current rip in Ishikari Bay caused by the inflow of the Ishikari River was found in quantities of from 3.01 to 6.71 mg/L.

In sea water, concentrations under 3.01 mg/L were observed.

2. The soluble organic matter was abundant in the surface water to the depth of 2.5 meters in the mouth of the Ishikari River, but generally became less at the river mouth with depth.

On the other hand, in the offing, the content values were abundant at the river mouth with depth, but the high values of soluble organic matter moved from place to place.

緒　　言

潮境が古くから種々の漁場となることは，多くの人々によつて知られ，その形態についての研究も行われている。近年，松平・その他等[1,2,3]は海洋における生物生産の場としての潮境の生態的な意義を解決する手懸りとして，溶存酸素と[illegible]の関係，またプランクトン資源分布，或はサンマの分布と潮流について等の報告がある。

石田・鈴木・佐野[illegible]は漁場学的にみた潮目の形態について，レーダー，航空機，音響探知機，肉眼等により種々調査し，研究を行い，その結果について報告された。また1959年，石狩湾では沿岸水と暖流系津軽暖流，冷水塊と[illegible]によつて生ずる潮目はあるが，石狩川の河水の流出によつて湾内に出来る潮目の形態についての研究調査は全くない。鈴木等[illegible]は，これらの究明の一助として超音波からみた潮目の形態についての研究を行い，その結果を報告された。また石狩川口附近の[illegible]における[illegible]について，小林によつて報告されている。

石狩川は石狩沿岸の開発が進むにつれて，川の汚染がひどくなり，河水によつて運ばれる汚染物が石狩湾に出，外洋水，石狩湾水，と稀釈され海域に放出される。石狩川の流出によつて生ずる潮目についての化学的研究は少く，石狩川の河水によつて石狩湾に搬入された可溶性有機物についての研究は全く無い。

可溶性有機物は，港湾において，都市排水，工場排水等の影響する海域や，海洋で沿岸水や河川の影響，特に海水と河水とによつて生ずる潮目について，河川の影響を調べる際には重要な要素である。

著者は鈴木等の研究調査の一環として，石狩川の河水が石狩湾の海流によつて顕著な潮境を生成する際，

河水によつて搬入された可溶性有機物を測定し興味ある結果を得たのでここに報告する。

なお，本研究に際し，試料の提出を受け種々御便宜を賜つた本学部，鈴木恒由講師並びに分析に御協力下さつた岩間秀彥の諸氏に感謝する。

試料及び実験方法

石狩川河水の流出によつて湾内にできる潮目の分布状態は，著しく風向によつて左右されるので，南風系の時を選び，1959年7月～8月にわたつて観測点42をとり採水を行つた。観測地点は第1図に示す如くである。採水には北原式乙型採水器を用いて海水をポリエチレン瓶に採取し，密栓し，ロウにて密閉し，実験室に持ち帰り，直ちに可溶性有機物の分析を「海洋観測」[8] 法に従つて行つた。

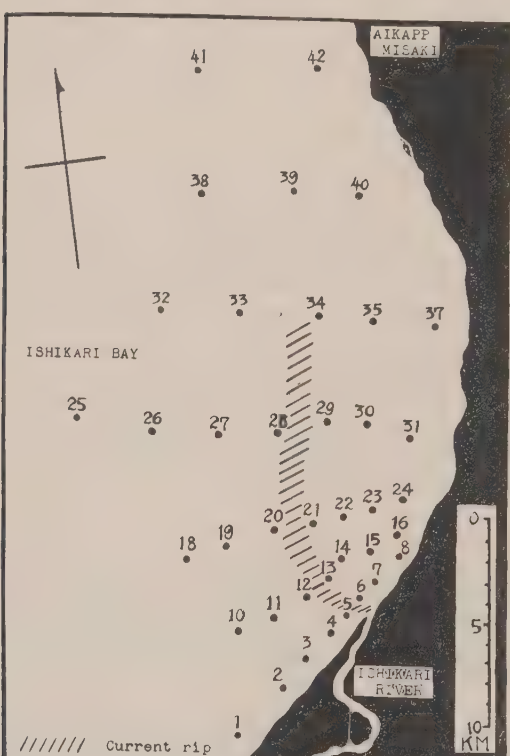


Fig. 1. Stations of observation in Ishikari Bay

実 験 結 果

海水中の可溶性有機物の分析結果を第1表に示した。可溶性有機物の分布については，表面は第2図，水深2.5mを第3図，水深5mを第4図，水深10mを第5図，海底層水を第6図に示した。

表面海水（第2図）については，河口附近一帯が 7.72～22.75mg/l の非常に高い値を示している。これは石狩川の河水によつて運ばれる有機物量の多い事を示唆している。また st. 29 においては，6.71mg/l を示し他の st. に較べて約5倍の有機物量を示していて，河水によつて生ずる潮境においては，3.01～6.71mg/l の値となつており，こより左右両側即ち，海水区においては有機物量が減少している。

水深2.5m（第3図）において，河口附近に可溶性有機物が多く，沖合に出るに従つて減少している。水深5m（第4図）においては，河口附近は 2.44～3.56mg/l であつて，水深2.5mほどの可溶性有機物は見られず，st. 29 において 7.26mg/l という高い値が見られる。水深10m（第5図）に至つては，それほど高い値は見られず，2.44～3.62 mg/l であり，海水区に見られる値と変りはない。海底層水（第6図）についてみるに，圧倒的に河口附近が有機物量は多く，その分布状態は表面海水と同様であるが，有機物の値は表面海水より低い値を示している。

考　　　察

石狩湾は一般に第7図に示した如く，暖流系水が積丹半島添いに湾内に浸入し，湾内に左旋流をおこさせると同時に，厚田，小樽の沿岸に弱い反流をおこさせる。石狩川から流出する河水は第8図～第16図に示したように湾流に乗り皮流の状態となつて沖合に運ばれると同時に，河水と海水との境界面に顕著な潮目が発達する。第2図より判る如く，石狩湾表面海水の可溶性有機物は，石狩川の河口附近海域と，st. 29 海域に高い値が見られる。また水深2.5mにおいても同様な分布を示しているが，水深5m，10mと深くなるに

Table 1. Soluble organic matter of sea water in Ishikari Bay

Station No.	Depth of the Observed Layer (m)	Soluble Organic Matter (mg/L)
1	0	2.70
	2.5	3.29
	5	3.14
	8	3.40
2	0	2.65
	2.5	3.48
	5	2.65
	8	2.97
3	0	2.97
	2.5	2.56
	5	3.04
4	0	3.57
	2.5	2.60
	5	2.80
5	0	2.29
	3	2.28
6	0	3.52
	2.5	3.84
	4	3.13
7	0	7.72
	2.5	3.13
	5.5	3.04
8	0	4.85
	2.5	14.53
	5	2.44
9	0	3.31
	2.5	3.15
	5	2.99
	10	2.44
	15	3.46
	20	3.25
11	0	2.66
	2.5	2.66
	5	2.66
	10	3.38
	15	2.44
	20	2.56
12	0	3.13
	2.5	2.80
	5	2.49
	10	2.77
	15	3.01
13	0	6.69
	2.5	5.00
	5	2.85
	10	2.91
14	0	7.27
	2.5	5.50
	5	3.55
	10	2.53
15	0	8.26
	2.5	5.10
	5	2.92
	10	3.08
	14	9.04
16	0	7.58
	2.5	5.40
	5	2.84
18	0	3.01
	5	2.40
	10	2.65
	15	3.32
	20	2.60
	25	3.08
19	0	2.66
	2.5	2.57
	5	2.47
	10	2.77
	15	2.92
	20	3.39
	24	2.68
20	0	2.71
	2.5	2.59
	5	2.47
	10	3.54
	15	3.56
	20	2.90
	24	3.30
21	0	3.93
	2.5	3.12
	5	2.31
	10	3.48
	15	3.13
	20	2.99
22	0	3.13
	5	3.05
	10	2.45
	15	2.56
23	0	3.92
	2.5	2.85
	5	1.97
	10	2.84
	15	2.95
24	0	3.01
	2.5	3.12
	5	3.24
	10	2.80
	15	2.68
	20	2.56
	25	2.34

Station No.	Depth of the Observed Layer (m)	Soluble Organic Matter (mg/L)
25	0	2.56
	5	2.34
	10	2.44
	15	2.92
	20	2.84
	25	2.36
	30	2.97
	35	3.13
26	0	2.98
	5	3.42
	10	2.73
	15	2.96
	20	2.93
	25	3.01
	30	3.29
27	0	2.91
	5	2.99
	10	2.72
	15	2.83
	20	2.52
	25	3.24
	30	2.83
28	0	2.47
	5	7.26
	10	3.48
	15	4.97
	20	2.68
	25	2.73
29	0	6.71
	5	2.84
	10	2.92
	15	4.18
	20	3.33
	24	2.17
30	0	3.29
	5	3.40
	10	3.62
	15	3.03
	20	2.67
31	0	3.22
	5	2.84
	10	2.73
	15	2.63
32	0	4.94
	5	3.19
	10	2.65
	15	4.00
	20	5.39
	30	6.05
33	0	2.05
	5	2.56
	10	2.65
	20	2.36
	30	2.13
34	0	4.43
	5	3.53
	10	3.52
	15	2.67
	20	2.84
	24	3.07
35	0	3.89
	5	3.60
	10	3.45
	15	2.79
	20	3.00
37	0	3.75
	5	3.46
	10	3.18
38	0	2.43
	5	2.17
	10	5.27
	20	5.02
	30	2.98
39	0	3.79
	2.5	2.22
	5	2.59
	10	2.64
	15	2.84
	20	3.66
40	0	2.68
	5	4.96
	10	2.14
	15	2.49
	20	3.23
41	0	3.42
	5	5.95
	10	5.80
	20	3.65
	30	2.40
42	0	2.81
	5	3.45
	15	2.50
	20	2.63
	25	2.58

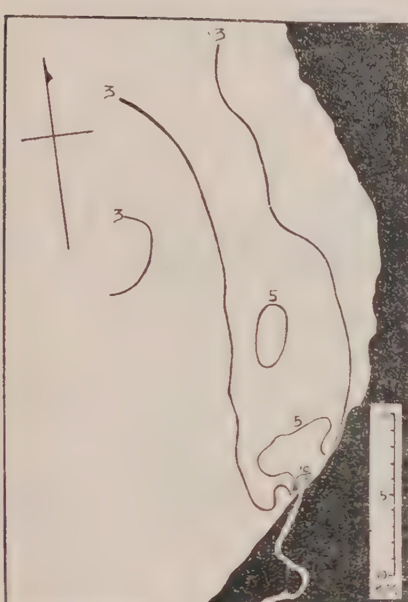


Fig. 2. Horizontal distribution of soluble organic matter (mg/L) Surface Layer

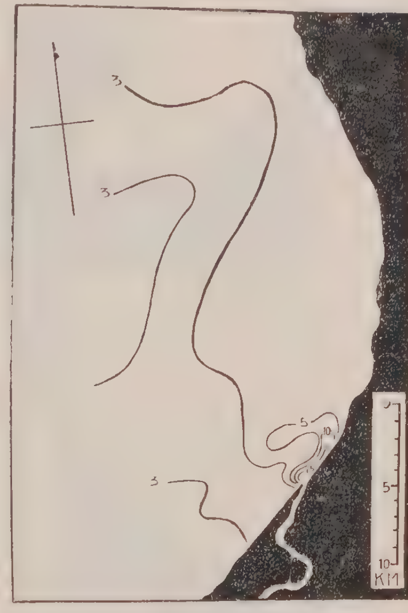


Fig. 3. Horizontal distribution of soluble organic matter (mg/L) 2.5 Meter Layer



Fig. 4. Horizontal distribution of soluble organic matter (mg/L) 5 Meter Layer

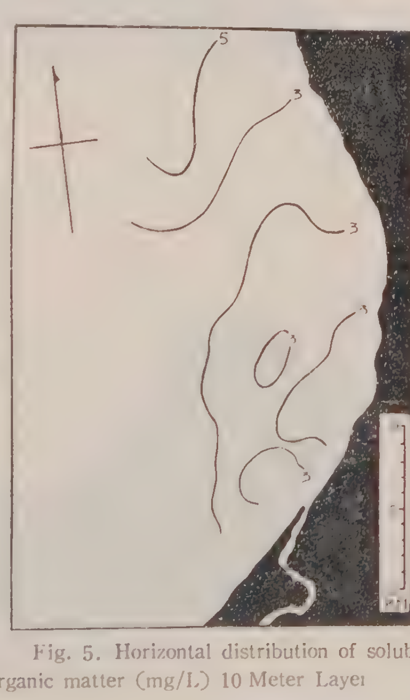


Fig. 5. Horizontal distribution of soluble organic matter (mg/L) 10 Meter Layer



Fig. 6. Horizontal distribution of soluble organic matter (mg/L) Bottom Layer

つれて st. 29 海域の可溶性有機物も少くなると共に河口附近の可溶性有機物量も急激に減少していることは第2図〜第6図より明らなことである。

かくの如く河口附近一帯と，st. 29 海域に高い値がみられるのは，石狩川河水によつて，有機物が運ばれ，沿岸添いの底層流により河水の流速が緩漫となるために河口附近において高い値を示す。流速が緩漫となつた河水が底層流の上層部に流上し，第12図，第13図，第14図等より明らかな如く st. 29 海域に達し，可溶性有機物が幾分濃縮された形となり高い値を示すものと考えられる。

石狩湾の石狩川の河水によつて生ずる潮境の可溶性有機物は前述の如くで，本調査時における潮境は第1図に示した如くである。この潮境附近では3.01〜6.71 mg/l で，海水区では 3.01mg/l 以下の値に減少している。しかし，その拡散，分布状態は，塩分の場合と異なつて沖合に行くに従つて表面より中層，下層えとその分布の最高値が移動するとともに広がつている。これは海水中の有機懸濁物が，海水中に溶存する強電解質の塩によつて凝集を起し，微粒子状に，ゲル化し沈降速度が遅くなるためと考えられる。

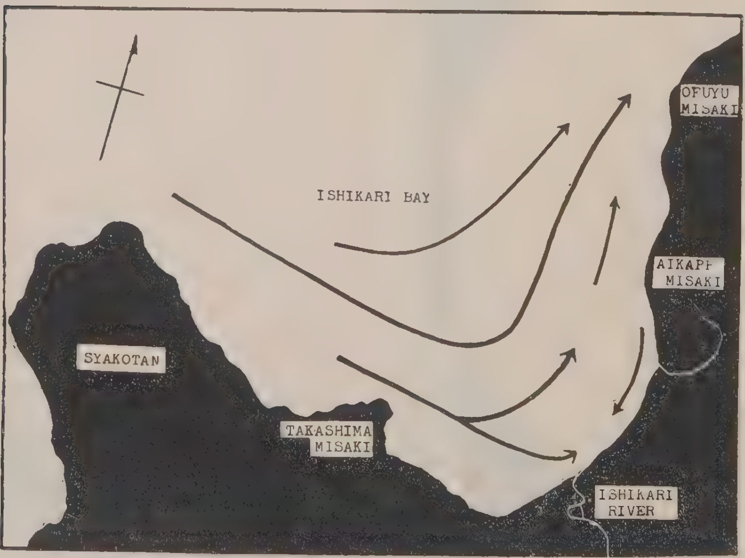


Fig. 7. Schematic representation of the hydrographic conditions of Ishikari Bay

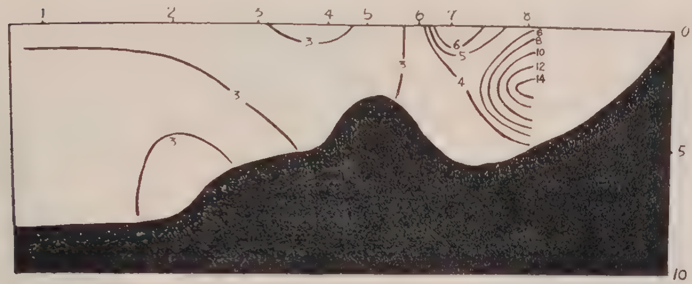


Fig. 8. Vertical distribution of soluble organic matter
from st. 1 to st. 8 in Ishikari bay

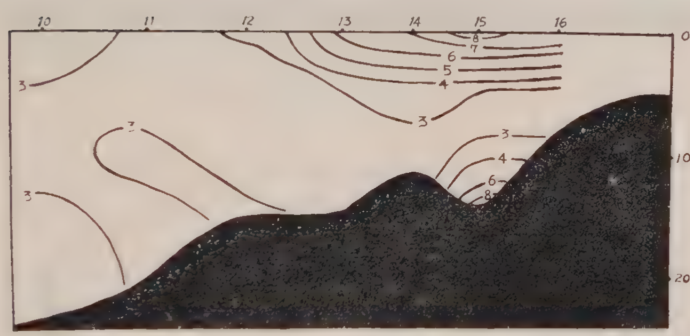


Fig. 9. Vertical distribution of soluble organic matter
from st. 10 to st. 16 in Ishikari Bay



Fig. 10. Vertical distribution of soluble organic matter
from st. 18 to st. 24 in Ishikari Bay

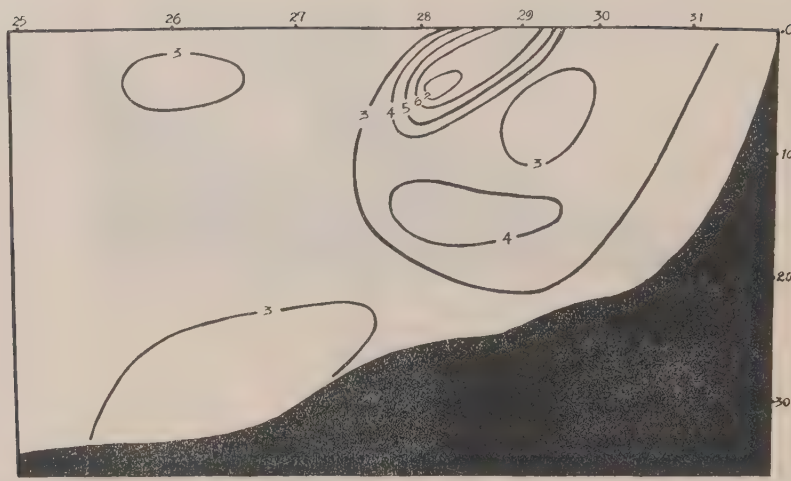


Fig. 11. Vertical distribution of soluble organic matter from st. 25 to st. 31 in Ishikari Bay

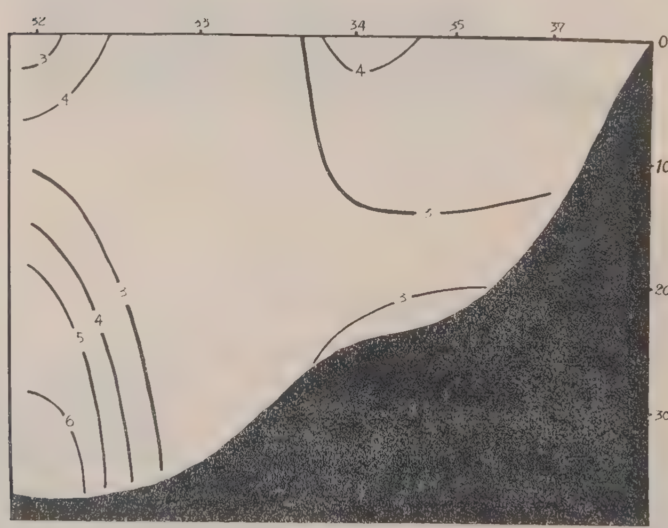


Fig. 12. Vertical distribution of soluble organic matter from st. 32 to st. 37 in Ishikari Bay

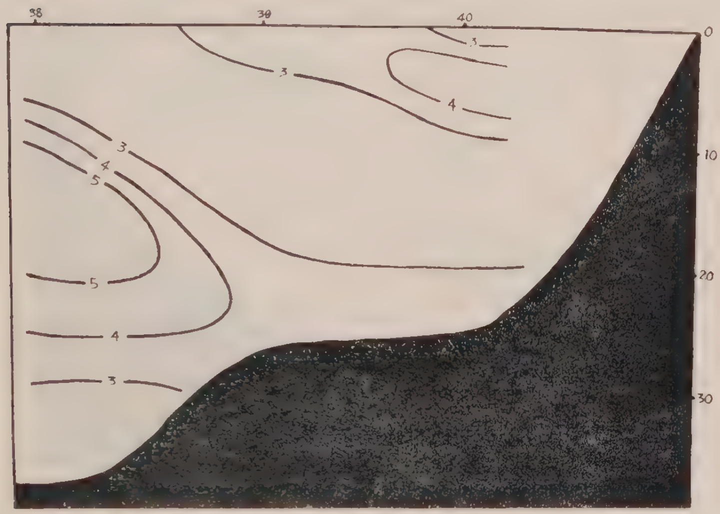


Fig. 13. Vertical distribtion of soluble organic matter from st. 38 to st. 40 in Ishikari Bay

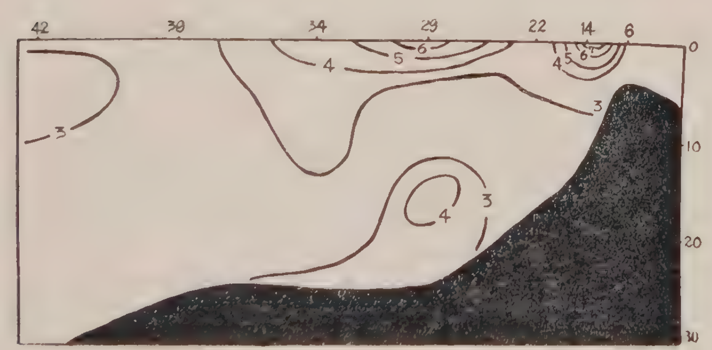


Fig. 14. Vertical distribution of soluble organic matter from st. 6 to st. 42 in Ishikari Bay

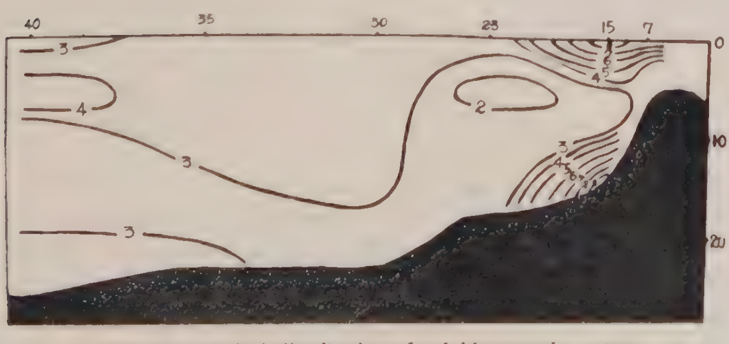


Fig. 15. Vertical distribution of soluble organic matter from st. 7 to st. 40 in Ishikari Bay

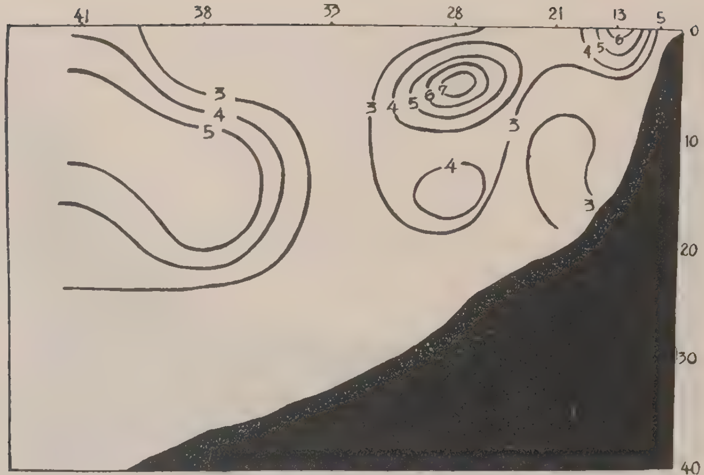


Fig. 16. Vertical distribution of soluble organic matter from st. 5 to st. 41 in Ishikari Bay

要　　約

石狩川の河水によつて生ずる潮目について，河川により運ばれる陸性可溶性有機物の分布について研究を行い次のような結果が得られた。

1) 潮境においては 3.01〜6.71mg/l 高い値がみられた。

2) 潮境の左右の海水区では 3.01mg/l 以下の値を示した。

3) 石狩川の河水は石狩湾の湾流に乗り，皮流の状態となつて沖合に運ばれる。

4) 石狩川河口附近において，可溶性有機物量は表面より約 2.5m までは圧倒的に多い。水深 2.5m より以深では可溶性有機物量は減少しているが，st. 29 海域に最高値が見られる。これは海水が底層流の上層部に流上して濃縮されるためと思われる。

5) 河口から沖合に行くにつれて表面より中層，下層へと，有機物量の最高値が移動すると共に広がつている。これは海水中の有機懸濁物が，海水中の強電解質の塩によつて凝集を起し，微粒子状となるので沈降速度が遅くなるためと考えられる。

文　　献

1) 松平近義・岩崎英雄・津田　勉 (1956). 潮境に於ける水産資源の定量生態学的研究 I. 海水中の溶存酸素と燐酸塩との関係について. 日水誌. 21 (11), 1134-1140.

2) ――――・――――・―――― (1956). 同上　II. プランクトン資源分布. 同誌. 21 (11), 1141-1143.

3) ――――・――――・―――― (1956). 同上　III. サンマの分布と洄游について. 同誌. 22 (3), 156-161.

4) 石田正己・鈴木恒由・佐野典達・斎藤市郎・三島清吉 (1960). 潮境の探知に就て. 北大水産彙報 10 (4), 291-302.

5) 鈴木恒由 (1960). 水の事典 (25), 潮目. 科学朝日 20 (5), 113-117.

6) 鈴木恒由・佐野典達 (1960). 石狩川河水の流出に依つて湾内に出来る潮目について. 北大水産彙報 11 (3), 132-161.

7) 小林喜雄 (1960). 石狩川口附近の潮目に於ける幼稚魚. 北大水産彙報 11 (3), 106-118.

8) 神戸海洋気象台 (1936). 海洋観測法. 海洋学会.

石狩川河水の流出によつて湾内にできる潮目の化学的研究

第2報　海底腐植の分布について

小　黒　美　樹
（北海道大学水産学部海藻化学教室）

Chemical Studies on the Current Rip in Ishikari Bay caused by the Ishikari River flowing into that Bay

2. On the distribution of marine humus contents

Miki OGURO

Abstract

For the purpose of clarifying the correlation between the distribution of marine humus contents, and geographic environments, oceanographical investigations have been made of 44 bottom samples from the river-mouth of the Ishikari River as shown in Fig. 1.

In this area, the oceanographic environments and bottom configuration and river-water of the Ishikari River are each very complicated.

The procedure herm reported was to make chemical analyses (ignition loss, organic carbon content, and total nitrogen) of the organic matter of bottom sample.

From these investigations the obtained results may be summarized as follows:

1. The distribution of organic contents (such as organic carbon contents, amount of ignition loss and total nitrogen contents) showed a similar tendency.

2. The contents of organic matter were abundant at the river-mouth but generally poor in the offing.

3. The bottom materials in the bay contained organic carbon ranging from 0.14 to 6.61 per cent, total nitroge ranging from 0.021 to 0.327 per cent; the amount of ignition loss ranged from 2.68 to 14.64 per cent.

The rate of carbon to nitrogen, C/N, was in the range of 2.00 to 46.89.

4. As shown in Fig. 6, it is seen that a linear relationship exists between the marine humus contents and the water depth, and that there is connection between the marine humus contents and the bottom-current.

5. In the river-mouth, large value of C/N was observed, however, it is seen that there is slowness of decomposition of organic matter on the bottom.

On the other hand, in the offing, low value of C/N was observed. It is seen that there is higher decomposition velocity of organic matter by the bottom-current on the sea bottom.

緒　　言

石狩湾の底質についての研究は少く，加藤[1]の報告があるのみである。石狩川河口を中心とした底質，即ち石狩川の河水によつて生ずる潮目との関連性からみた底質の研究は全く無い。

石狩川は石狩川沿岸の開発が進むにつれて川の汚染が大きくなり，河水によつて運ばれる有機物が石狩湾に出，外洋水，石狩湾流水にて稀釈され海底に蓄積される。海底堆積物には，河川により陸地から搬入蓄積された陸成性の有機物と，海洋に生活する動植物の遺骸や，海洋細菌による分解産物など種々の形の海成性の有機物とが含まれているが，これらの有機物は一般に〝海洋腐植〟或は〝海底腐植〟[2]と総称されている。

本報において，著者は，石狩川河水により潮目が生成する際，相当量の石狩川河水により陸地等から搬入，蓄積された陸性海堆積物，即ち海底腐植と潮目との関連性について研究を行つた。海底腐植の含有量を代表する指標として，灼熱減量，有機炭素量及び全窒素量等があげられる。土壌等において常用されている方法に基き底質試料の有機成分，灼熱減量，有機炭素量及び全窒素量の化学分析を行い，石狩湾における石狩川河口を中心とした海底腐植の分布状態を明らかにする事が出来たのでここに報告する。

実 験 の 部

1. 調査方法及び採泥

石狩湾内の石狩川河口を中心とする附近一帯について，1959年7月～8月にわたり，第1図に示す44地点において採泥を行つた。採泥にはエクマン採泥器を使用し，底質を上下よく混合して広口瓶に採取し，密栓し，ロウにて密閉した。

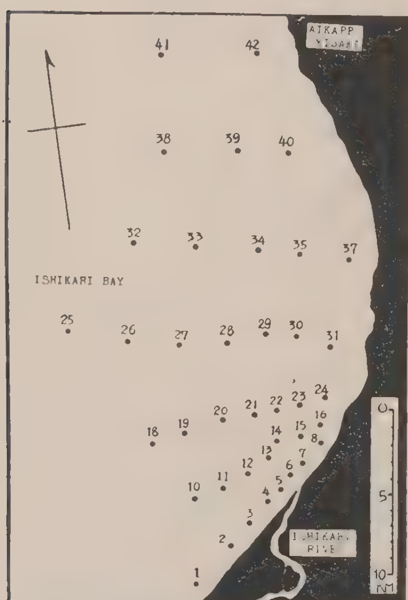


Fig. 1. Stations of sampling of bottom materials in Ishikari Bay

2. 測定方法

測定に当つて，湿泥を80°～90° Cで迅速に乾燥，細砕し貯蔵に堪え得る程度にして保管した。化学分析を行うに当つては残存している湿気や結合水等を除去する目的で 100±5° Cにて2時間以上乾燥したものをデシケーター中に保存し，有機炭素，灼熱減量，全窒素量の測定を行つた。

有機炭素量はクロム硫酸の消費量から間接的に求める Tiurin 法により全窒素は Kjeldahl 法によつた。

実 験 結 果

底土の灼熱減量，有機炭素量及び全窒素量と，海底における有機物代謝を示唆する有機炭素量と全窒素量との比，C/N 等を第1表に示した。

灼熱減量（第3図），有機炭素量（第2図）及び全窒素量（第4図）の分布は類似しており，一般に石狩川河口附近地域と沿岸添いに高い値を示し，これらの地域から遠のくに従つて，その値は低くなつているのは以下の事由によるものであろう。

石狩川の河水によつて多量の有機物が湾内に流入し，石狩川河口附近地域では比較的流速が緩漫であり，その為に有機物質が底土表面に沈降することに原因していると考える。st. 26，27，28，35 が低い値を示しているのは，水の流動が大きいため微細な有機物質の含量が少くなつているためと考えられる。また st. 33 附近に灼熱減量及び有機炭素量の多い地域が存在しているのが注目される。

C/N（第5図）についてみるに，最大は 46.8，最小 3.11であり，st. 25，26，27，28，34，40 一帯は，その値は10.0以下である。この地域は比較的よく外洋水の影響を受けて有機物の分解が円滑に進んでいるのであろう。これらの地域に対し石狩川河口地域では概して高い値を示しているのは，水の動きが緩漫のため多くの有機物の沈澱を可能にし，またそれらの分解速度も遅く，未分解部分も多く含有することによると考えられる。st. 33，39，42 において少しく高い値を示しているのが目立つ。また st. 25，32 では他の成分と同様 C/N も低くなつている。

Table 1. Chemical properties of bottom materials in Ishikari Bay

Station No.	Depth (m)	Organic Carbon %	Marine Humus %	Total Nitrogen %	C/N	Ignition Loss %
1	8	0.39	0.67	0.103	3.77	3.29
2	8	0.52	0.90	0.150	3.49	4.08
3	5	0.49	0.85	0.086	5.74	3.36
4	4.8	0.28	0.49	0.105	2.68	3.34
5	3	0.63	1.09	0.033	19.48	3.40
6	4	5.12	8.82	0.177	28.90	12.02
7	5.5	0.99	1.71	0.021	46.89	5.58
8	5.5	1.84	3.17	0.071	25.93	6.21
10	23	1.02	1.75	0.092	11.01	5.04
11	19	2.47	4.26	0.092	26.94	7.92
12	17	4.18	7.20	0.186	22.45	11.43
13	15	4.89	8.44	0.223	21.96	14.64
14	12	3.35	5.77	0.188	17.82	11.84
15	14	4.69	8.09	0.243	19.34	13.77
16	8	0.61	1.05	0.100	6.15	4.13
18	25	0.88	1.51	0.052	16.94	4.48
19	24	0.80	1.35	0.036	22.07	4.94
20	24	1.85	3.19	0.256	7.22	6.73
21	19	6.61	11.39	0.327	20.21	18.16
22	17	3.49	6.02	0.206	16.98	10.95
23	17	1.76	3.04	0.124	16.16	6.10
24	16	2.43	4.19	0.081	30.07	7.83
25	36	0.16	0.28	0.052	3.11	3.45
26	33	0.72	1.24	0.079	9.19	5.58
27	30	0.86	1.47	0.192	4.45	5.46
28	25	0.98	1.69	0.101	9.71	6.53
29	24	0.88	1.52	0.089	9.89	5.14
30	22	0.69	1.18	0.125	5.48	4.99
31	17	2.42	4.18	0.114	21.27	8.48
32	36	0.14	0.24	0.069	1.95	2.68
33	33	2.13	3.67	0.150	14.18	8.74
34	24	0.95	1.64	0.134	7.11	5.33
35	22	1.86	1.96	0.113	16.51	6.60
37	15	1.45	2.50	0.152	9.54	10.52
38	37	0.41	0.71	0.064	6.43	4.38
39		1.14	1.96	0.071	15.92	5.93
40	25	0.98	1.69	0.109	8.96	5.43
42	30	2.68	4.62	0.215	12.50	9.65

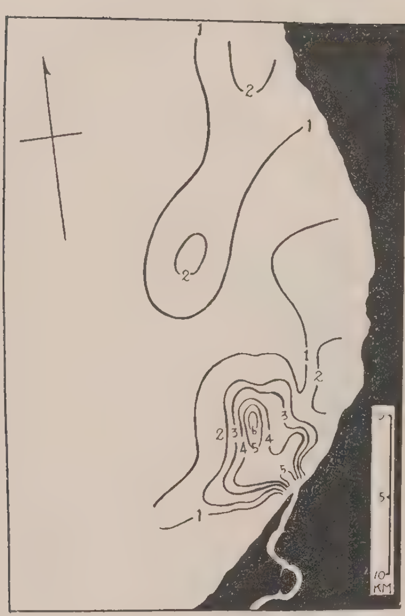


Fig. 2. Distribution of organic carbon of bottom materials (%)

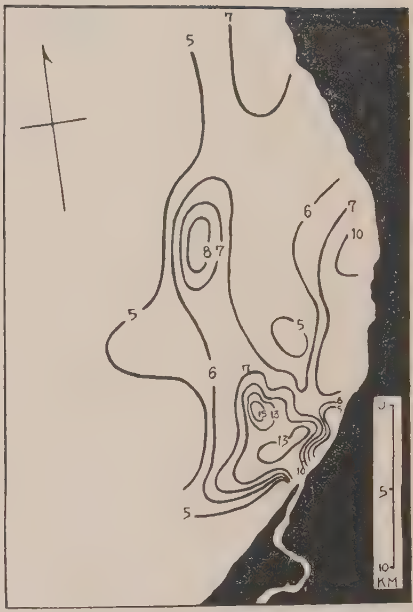


Fig. 3. Distribution of ignition loss of bottom materials (%)

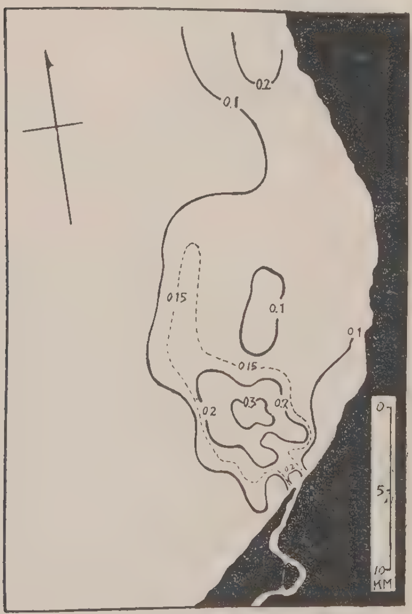


Fig. 4. Distribution of total nitrogen of bottom materials (%)

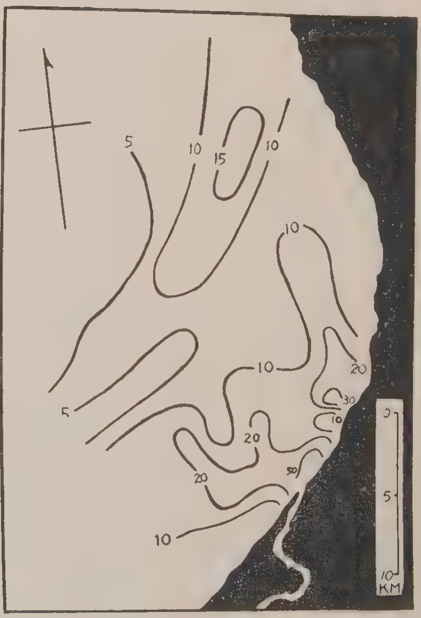


Fig. 5. Distribution of rate of carbon to nitrogen, C/N, of bottom materials

考　　察

石狩湾における底土の性状は，その湾の周辺を構成する海底地形，地質及び潮流，波浪等によつて左右され，またそこに棲息する生物群の状態や，河川都市から搬入される汚染水も大いに関連してくるのである。従つて底質の分布は，これらの環境要素を反映して種々の複合要因が集約された状態を示し，水界における環境条件を可成り指標するものと考えられる。石狩湾底土について有機物を指標するものとして，有機炭素，灼熱減量及び全窒素量を測定した。石狩湾全体としてみると有機炭素量は最大6.61%，最小0.14%で，灼熱減量は最大 18.16%，最小 2.68%であり，全窒素量は最大 0.327%，最小 0.052%となつている。

C/Nは最大 46.89，最小 3.11であつて石狩川河口附近地域，st. 33，39，42と st. 26，27，28，29，30，34，40とでは明らかにその値が異なつている。これは両海域へ沈澱する有機物量の違いや，それらの有機物の分解速度の違いが原因していると思われる。石狩川河口附近は水深が浅いため，光，酸素，温度などの条件が好適で有機物の分解が割合に順調に進行しなければならないのにも拘らず，異常に大きな C/N 値が見られるのは，石狩川の河水によつて陸上の有機物，汚物等が搬入されると共に沿岸添いの底層流のために河水の流速が緩漫になるため，多量の有機物が沈澱し，分解速度も遅く，従つて未分解部分が多く含有するものと考えられる。

st. 20，25，26，27，28，29，30，34，40は前にも述べた如く有機物質が少ないのである。第6図は水深（m）と底質腐植質含量（%）との関係を示した。これから明らかなように底質腐植質含量は水深と直線的な関係にあつて9地点は，第6図の点円内に一括され，この線に沿つて底層流が存在し，有機物質の含有量が少くなつているためであろうと考える。

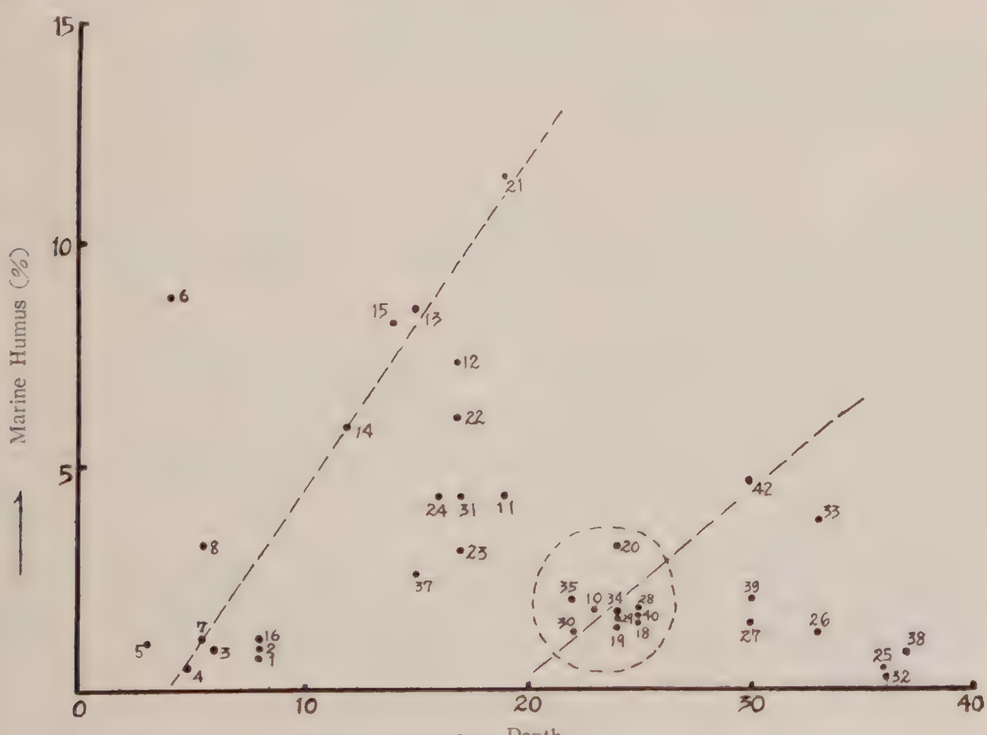


Fig. 6. Relation between the values of Marine Humus and depth

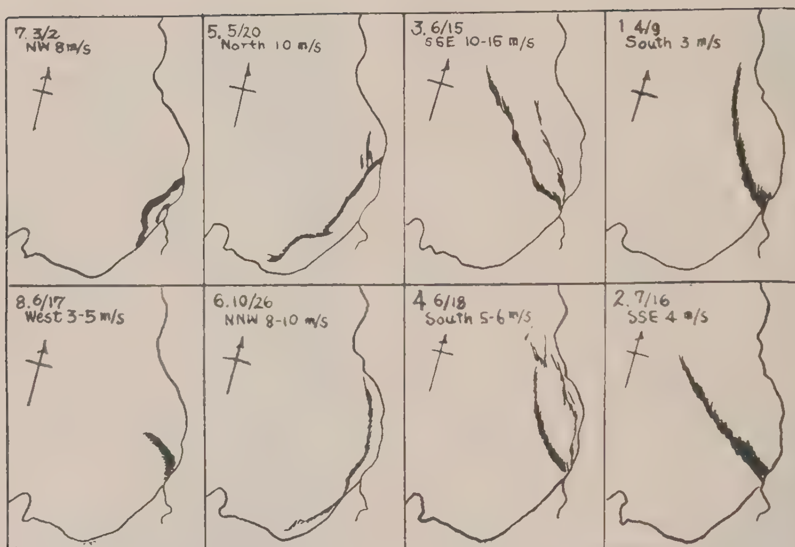


Fig. 7. Rough sketch of current rip in Ishikari Bay observed by airplane

以上の事から鈴木[4)]が述べている如く，潮目分布の見取図（第7図，鈴木より提供）の1～4と5～7を重ね合せたものであつて，底土の現状からしても，潮目，湾流，風向等と大いに関連のあることがうかがわれる。しかしながら潮目の分布状態は風向によつて著しく左右されているので，年間を通じ，南風，北風とおこる頻度により沈澱量も違うものであろう。

要　約

石狩川河口を中心とした海域より採取せる44個の底質試料について，灼熱減量，有機炭素量及び全窒素量を分析し，また各試料の有機炭素量と全窒素量の比 C/N を計算して，この海域における海底腐植の分布状態について次の結果を得た。

1. 有機炭素量，灼熱減量及び全窒素量の分布は類似しており，これら含有量の多い地域は st. 10, 11, 12, 13, 15, 16, 24, 31 と st. 6, 13, 21, 28, 33 とに2分して考えることが出来る。
2. 腐植質含有量と水深とは，概ね直線関係が存在し，底質腐植質含量と底層流とは関連性があるようである。
3. 底層流のために石狩川の河水の流速が緩漫となり，河口附近に多量の有機物が沈澱する。
4. C/N 値から，沈澱した有機物の分解は，河口附近は分解速度が遅く，底層流の存在する地域では分解速度が早いようである。
5. 灼熱減量，有機炭素量，全窒素量 C/N 及び底質腐植質含有量と水深との関係等から，石狩川の河水によつて陸性の有機物，汚物等が搬出され，海底に蓄積される量と，潮境と非常に関係が深い。潮境は石狩湾の潮流と風向によつて著しく左右されるが，1年を通じ南風，北風とおこる頻度によつて，有機物が海底に蓄積される量は異なる。

文　　献

1) Kato, K. (1956). Chemical investigations on Marin humus in Bottom sediments. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 2 (4), 187-192.

2) Waksman. S. A. (1933). On the distribution of organic matter in the sea bottom and the chemical nature and origin of marine humus. *Soil. Sci.* 33, 125-147.

3) 鈴木恒由・佐野典達 (1960). 石狩川河水の流出に依つて湾内に出来る潮目について. 北大水産彙報 11 (3), 132-161.

可溶性アルギン酸塩類に関する研究

第２報　同一のアルギン酸に由来する，リチウム，ナトリウム，カリウム，アンモニウム各塩類の pH について

小　黒　美　樹

[illegible]

Studies on Soluble Alginates

(II) The pH of soluble alginates including lithium alginate, scdium alginate, potassium alginate and ammonium alginate

Miki OGURO

Abstract

As yet few investigations have been made on the colloidal and chemical properties of various soluble alginate solutions which were made from a batch of alginic acid.

In the present report, the pH value of diluted alginate solutions was determined by glass electrode method in different concentrations of soluble alginate solutions, which were prepared from a batch of alginic acid.

According to the results obtained, the pH value of lithium alginate has a maximum value in comparison with another alginates: the values were deteriorated sodium alginate potasium alginate in that order.

On the other hand, ammonium alginate solution shows more acidity than that of potassium alginate solution.

緒　　言

[illegible] pH [illegible] これらはいずれもアルギン酸ナトリウム或は同一の条件でなく調製したアルギン酸リチウム，カリウム，アンモニウム塩であって，[illegible] pH の [illegible] についての研究は殆んど見られない。

[illegible] されること，[illegible]

[illegible] される二三の異常性について報告する。

I 試料及び実験方法

[illegible]

とした。

pHの測定に際しては，キンヒドロン法或はアンチモン電極法などでは正しいpHを求めることが困難であるので，著者は，島津製GU-2型，硝子電極pH計を用い，アルギン酸アルカリ塩類のpHを測定した。測定温度は20°Cである。

Ⅱ 実 験 結 果

第1表は，同一のアルギン酸から調製した，アルギン酸リチウム，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩類の水溶液のpHの測定結果を示し，図示したのが第1図である。

Table 1. pH of Diluted Alginate Solution by Glass Electrode Method at 25°C

Li-Alginate C (g/dl)	Li-Alginate pH	Na-Alginate C (g/dl)	Na-Alginate pH	K-Alginate C (g/dl)	K-Alginate pH	NH_4-Alginate C (g/dl)	NH_4-Alginate pH
2.115	8.60	2.159	7.48	2.183	6.53	1.050	5.80
1.269	8.43	1.295	7.00	1.309	6.47	0.6301	5.97
0.7617	8.17	0.7770	6.90	0.7857	6.50	0.3780	6.08
0.4570	8.04	0.4662	6.83	0.4714	6.50	0.2268	6.30
0.2742	8.15	0.2797	6.60	0.2828	6.52	0.1361	6.35
0.1645	8.39	0.1678	6.59	0.1697	6.48	0.0816	6.35
0.0987	7.55	0.1007	6.58	0.1018	6.57	0.0489	6.35
0.0592	7.48	0.0604	6.59	0.0611	6.57	0.0294	6.37
0.0355	7.10	0.0363	6.49	0.0367	6.52	0.0176	6.38
0.0213	7.04	0.0217	6.28	0.0219	6.52	0.0106	6.38
0.0128	6.48	0.0131	6.54	0.0132	6.53	0.0063	6.38
0.0077	6.46	0.0078	6.55	0.0079	6.78	0.0038	6.45

第1図に示したように各塩類の稀薄溶液におけるpHの変化は極めて特異的で甚だ興味深い。即ち，アルギン酸リチウム溶液については，約0.15%以上の比較的濃厚な溶液においては，pHは8.0〜8.6で濃度の増加にともないpHの増加を示すが，0.15%より濃度が減少するにともなってpHは減少し，濃度0.013〜0.0046%においてpHは6.4でほぼ一定となる。更に濃度がそれ以下になるとpHは増加し，蒸溜水のpH6.8となる。

アルギン酸ナトリウム溶液においては，アルギン酸リチウム溶液のpHよりも低く，約0.06以上の比較的濃厚な溶液では，pHは6.5〜7.4で，濃度の増加にともないpHの増加をみるが，0.06%より濃度が減少するにつれてpHも減少し，濃度0.02%で最低値pH6.28となり，更に濃度が減少するとpHは次第に増加する。

アルギン酸カリウム溶液のpHの変動は，約0.15%以上の濃度においては，pH6.50で，濃度が増加してもpHはほぼ一定である。濃度0.15%より濃度が低くなるにつれて，pHは次第に上昇し，濃度0.03〜0.013%ではpHは6.52でほぼ一定となる。

アルギン酸アンモニウム溶液では，前者の塩類に見られた如き傾向は見られず，水溶液は可成り酸性で，濃度が減少するにつれてpHは漸次増加し，蒸溜水のpH6.8となる。

Ⅲ 考　　察

高分子電解質は溶液中においては，一部或は完全にイオンに解離し，高分子イオンは平均して糸毬状となり，対立イオンはこの糸毬の内部及び外部に分布している。高分子電解質であるアルギン溶液では，陰電荷

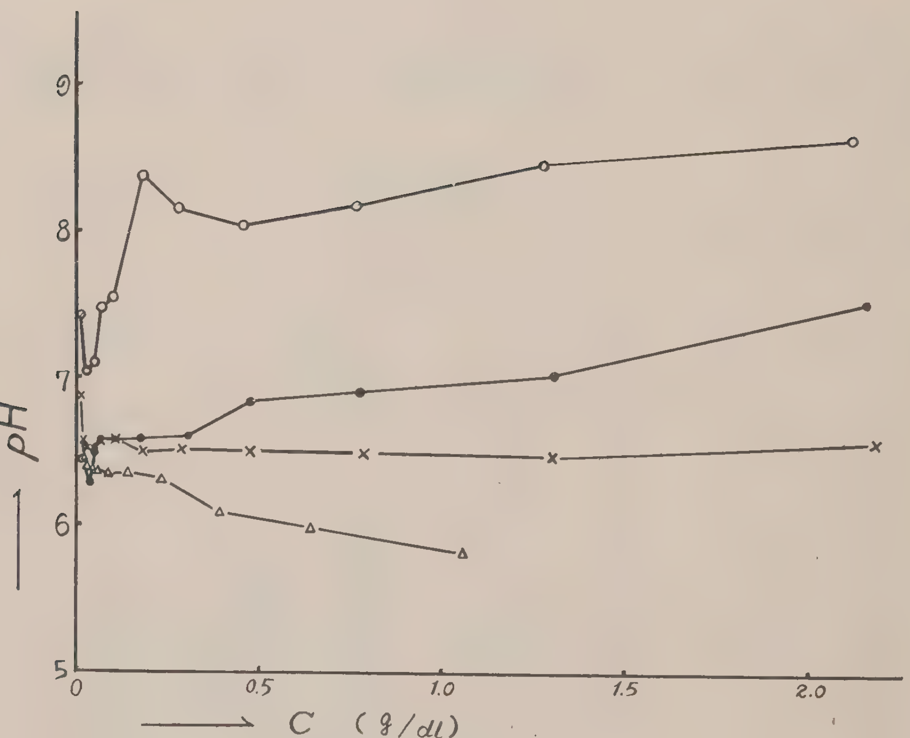


Fig. 1. pH of alginate solutions
○—○ Li-alginate　×—× K-alginate
●—● Na-alginate　△—△ NH_4-alginate

を有するアルギン酸イオンと，陽電荷を有する金属イオンとに解離しているが，Standinger[6] の所謂ゾル領域においては，アルギン酸イオンは，その有する多数の陰電荷相互の静電的反撥力のため，伸長し，棒状に近くなつているが，濃度の増加にともない，アルギン酸イオンの周辺に引きよせられる対立イオンの数も増加し，分子反撥力は減少し，従つてアルギン酸イオンは屈撓して行き，糸毬状に発展してゆくのである。

またゲル領域においては，濃度が更に高くなると，糸毬状のアルギン酸イオンは互にからみ合い，溶液全体が網目構造を構成し，この間隙の中に対立イオンが分布している状態である。

著者は第2図に示した如きアルギン酸塩類の粘性挙動から，それら塩類が水溶液中に存在している分子の形状について，形状指数を求め，第1報において推察した。即ち，アルギン酸リチウムが，幾分と伸びた形で分散・解離しているのに反し・ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に糸状分子がからみ合い，糸毬状を呈し，遂に糸毬が互にからみ合う度合が大きくなる事を知つた。従つて網目構造を構成しているゲル領域においては，その間隙に対立イオンが多数存在する。かくの如き構造における pH の挙動は，この網目構造の間隙をぬつて格子内を流れる電子の如く，自由に行動出来る対立イオンの数に対応するものと考えられ，濃度の増加にともなう pH の増加は，この網目構造が塩類結晶の如きイオン格子に近い構造へと発展するものと思われる。

前述の如く，水溶液中では，アルギン酸リチウムが成分と分子が伸びた形で分散・解離しているのに反し，ナトリウム，カリウム，アンモニオム塩の順にその糸毬状への発展，糸毬のからみ合いの度合が大きくなるので，その網目構造の構成も強くなり，内部に存在する対立イオンの数も多くなる。従つて，アルギン酸リ

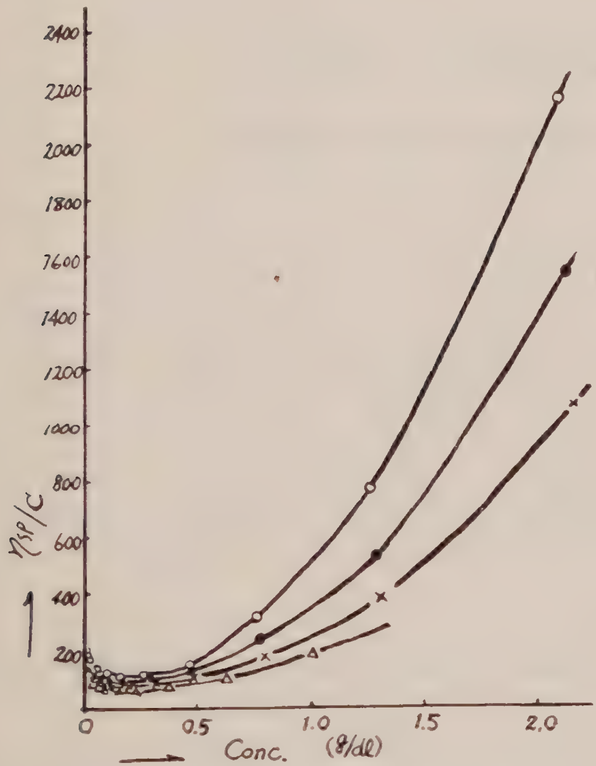


Fig. 2. Viscosity of alginate solutions at 25°C
○—○ Li-alginate　　●—● Na-alginate
×—× K-alginate　　△—△ NH_4-alginate

チウム溶液は，他の塩類に比して pH は高く，漸次 pH は低くなり，アルギン酸アンモニウム溶液においては最も低く，可成りの酸性を示すものと考えられる。

各塩類溶液のゾル領域における pH の挙動は，主としてアルギン酸イオンの陰電荷によつて拘束されることなく，溶媒中への可動対立イオンの数が増加してくるので，この可動対立イオン数に対応するものと考えられる。限界濃度附近においては糸毬状の分子が最も固く緊り，多数の対立イオンが糸毬内部にまき込まれ，固定されるために，pH は低い値を示すものと考えられる。この事については，誘電恒数が影響する粘性挙動から ηsp/C 値の上昇度合は，アルギン酸リチウム，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に，ゆるやかになり，特にアンモニウム塩においては，ほぼ一定の ηsp/C 値を広範囲な濃度にて示すことからもうかがわれるだろう。

濃度0.03~0.05%では，アルギン酸リチウム，ナトリウム，カリウム塩の各塩類の pH は最小値を示すが，アンモニウム塩においては，かくの如き最小値は認められず，また可成りの酸性を示し，濃度の減少にともない，pH は増加している。更に 0.03~0.15% の濃度において pH は 6.35 でほぼ一定した値を示している。これは，糸毬の固くからみ合つた状態が，濃度の稀薄になるにつれて，漸次ほぐされ，溶媒中に逃散しうるアンモニウムイオンも比較的に少いためであろうと考えられる。また他のリチウム，ナトリウム，カリウム塩類は，アンモニウム塩に見られる様な糸毬の最も密な固い緊まつた状態ではないため，漸次的に糸毬がほぐされるにつれて溶媒中に逃散しうる対立イオンも比較的に多くなつていくものと思われる。

総　　括

第1報において粘性挙動より各塩類の粘性指数を求め，各塩類の水溶液中での分子の形状について論じたが，本報にては，同一のアルギン酸より同一条件にて調製したアルギン酸リチウム，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩溶液について硝子電極 pH メーターを用い pH を測定し，水溶液中における各塩類の分子の分散，解離状態をよりよく説明しうることを示唆した。

文　　献

1) 清山哲郎 (1949-51). 工化. 52-54, 第1報~第11報.
2) 加藤健司 (1953). 北大水産彙報 4, 163-168.

3) 高橋武雄 (1951). 日化. **72**, 466.
4) 小黒美樹・鈴木昇 (1956). 北大水産彙報 **7**, 134-146.
5) 鈴木　昇 (1953). 同誌. **4**, 69-75.
6) Staudiger 著. 吉岡甲子郎訳 (1946). 有機膠質化学. 56p. 東京; 東洋書館.

RHYTHM OF DEVELOPMENT IN THE OOCYTE OF THE GOLD-FISH, *CARASSIUS AURATUS*

Kiichiro YAMAMOTO and Fumio YAMAZAKI
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

In order to understand the egg-production of fishes showing multiplicity of spawning, the first problem to be settled is to ascertain the developmental rhythm in the oocytes of the fishes. Studies along this line have already been performed by several workers using some kinds of pelagic fishes (Clark, 1934; Kambara *et al.* 1953; Andreu & Pinto, 1957, etc.). They investigated the problems principally by examining the seasonal changes in frequency curves of egg diameter. On account of the difficulty of direct observations on the spawning behaviour of those fishes, however, they could not make sure of the actual correlation between the rhythm of development of the oocytes obtained and spawning rhythm.

In the present study the writers have attacked the problem by using histological methods taking gold-fish as material. About the gold-fish, Beach (1959) has already published "Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the goldfish". Because of the object of his study, he dealt rather briefly with the rhythm of development of oocytes; moreover his results appear not to reveal their natural rhythm because his materials were cultured in aquaria of constant temperature. The present results show that histological methods are more suitable for the study of the rhythm of development of gold-fish oocytes than biometrical methods based on egg size, and that the information obtained may reflect actually the rhythm of spawning.

Before proceeding further, the authors wish to offer their cordial thanks to Mr. Kazunori Takano for his kind help during the sampling of materials.

Material and Methods

The gold-fish, *Carassius auratus*, used in the present study was restricted to the variety, "Wakin". Fish hatched in the preceding season were purchased in early spring from a gold-fish dealer and cultured in a pond of 5.0 m length, 3.5 m width and 1.0 m depth, except during the winter when they were kept in an indoor aquarium whose water temperature showed about 10 C throughout the season. Sampling was performed monthly, six fish at each time, during the period from the month when the fish were gotten, to November of the following

year. During that period the fish grew in average from 4.6 to 13.5 cm in body length. The same sampling procedures were repeated three times during the five years, 1956 to 1960. Body weight, body length and gonad weight of the fish were recorded. Gonads were cut into small pieces, and fixed with several kinds of fixatives such as Bouin's, Bouin-Allen's, Zenker's, Champy's, Regaud's and Gilson's fluids. For the fixation of oocytes at early developmental stages, Regaud's and Bouin-Allen's fluids gave good results, while Gilson's and Champy's mixtures proved to be suitable for oocytes of advanced stages. For examination of gonadal structure, several gonads were carefully taken out of the coelomic cavity and fixed in total with Bouin's fluid. Sections were cut at 10 micron thickness by means of the usual paraffin method, and stained according to Delafield's haematoxylin-eosin method and Heidenhain's iron-haematoxylin-light green method. Mallory's triple stain and modified Mallory's azan stain were also employed. Modified Mallory's azan stain proved to be the best for the differentiation of egg components. PAS reaction was also used to test the presence of carbohydrate in oocytes.

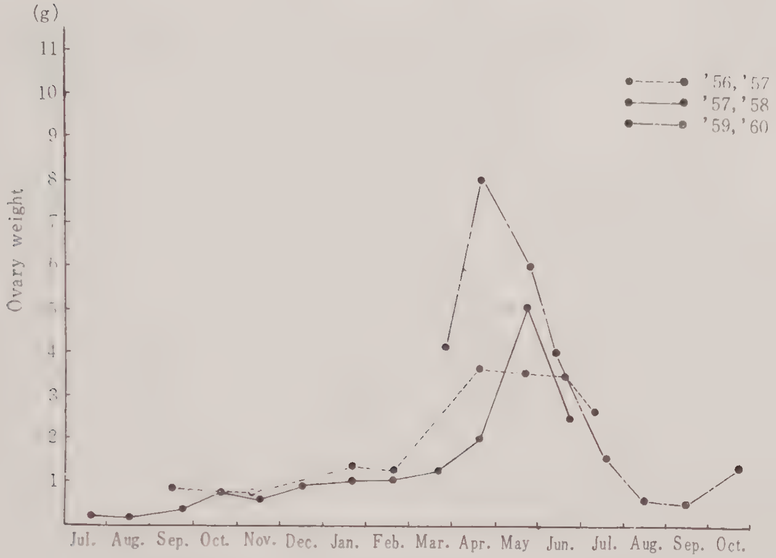
Results

1. *Ovarian changes in weight and external features*

The ovary of the gold-fish consists of two lobes of almost equal size, which are hung to the wall of the coelomic cavity by the short and thick mesovarium. The ovarian lumina are found in the upper part of each lobe. They are conjugated into one large lumen which is conducted backwards to the short oviduct which opens just behind the anus. Three layers may be distinguished in the wall of the ovarian lumen: the innermost layer composed of large and oblong cells with cilia, the middle layer of thick connective tissue, through which many blood vessels are running, and the outermost layer of compact and fibrous nature (Figures 14 and 15). The lower part of the lobes is occupied by ovarian stroma of lamilliform nature. Many ovigerous lamellae in which are embedded numerous oocytes of various sizes are found arranging themselves somewhat regularly.

The size of the ovary depends not only on its maturity, but also on the size of the fish. The greater the size of the fish, the larger is the size of the ovaries usually, if the oocytes present in the ovaries were the same in stage of development. So, ovary weight itself is not always the best indicator of ovarian maturity. In consideration of both weight and external features, however, the maturity of the ovary can be determined fairly properly.

In text-figure 1 is shown seasonal changes of ovary weight. From the figure it is clear that in one year gold-fish the ovary grows very slowly during the



Text-Fig. 1. Seasonal changes in ovary weight

summer. They weighed less than 0.5 g. Throughout the season they were almost colourless and transparent. In autumn, the growth of ovaries becomes rather fast. They attained to some 1.0 g in weight by the end of that season. Their colour changed into gray, and the large oocytes of the interior were visible to the naked eyes. As will be shown below, oocytes begin to be filled with yolk globules during this season. Throughout the winter the ovary continues to grow steadily and becomes 1.5 g in weight by the middle of March. The colour of the ovary is light brown and interior oocytes of large size are detected readily from outside. In spring ovaries grow quickly. Their weight attains to above 3 g by the middle of May. The ovaries filled with large eggs are opaque and bluish gray. The gold-fish cultured in the present writers' laboratory usually begin to spawn at the end of May and are accustomed to spawn twice or thrice in the same season as do also the fish of commercial culturists. The ovary near spawning was translucent, and gained weight conspicuously, being more than 5.0 g. Spent ovaries found in August were muddy, and contained a lot of fluid. They had lost weight, but still were about 1.0 g. After that, the recovery of the ovaries was rather fast. In late October some ovaries had already attained a weight of more than 2.0 g.

The ratio of ovary weight to body weight was also examined. The values were almost similar in tendency as those of total body weight, but the relative weight showed larger variations in individuals than the total weight.

Gokhale (1957) classified the gonadal maturity of the whiting and Norway pout into seven stages, viz., (1) immature virgin, (2) recovery spent or developing virgin, (3) maturing, (4) maturing, (5) full or ripe, (6) running or spawning and (7) spent. According to this classification, the ovarian maturity of the gold-fish was changed seasonally as follows. All ovaries obtained from one year fish in summer corresponded to the "immature virgin" stage. Some ovaries preserved in autumn were equivalent to the "developing virgin" stage and others to the "primary maturing" stage. In winter many ovaries showed the features characteristic of the "primary maturing" stage, though some ovaries were ranked with the "secondary maturing" stage. Ovaries corresponding to the "full" stage and the "running" stage were found during late May to July. Besides the ovaries of these stages, those belonging to the "secondary maturing" stage were recognized almost throughout the spawning season. The ovaries of the "spent" stage were found in late August and those of the "recovery spent" were obtained extending from September to early October.

It is noteworthy that in the gold-fish several kinds of ovaries in maturity such as the secondary maturing, full and running stages, were found at the same time during spawning season.

2. *Morphological changes of the maturing oocytes*

Concerning the histological study on the maturing oocyte of the gold-fish information has already been published by Beach (1959). However, his descriptions are rather brief and are concerned mainly with early phase of vitellogenesis. Therefore, the present writers would offer more detailed descriptions about the morphological changes of maturing oocytes in conformity with the senior author's paper on the flounder (Yamamoto, 1956 a).

1) Chromatin-nucleolus stage (Figure 1)

All through the year, very minute oocytes below 0.02 mm in diameter are found embedded in the ovigerous lamellae. They have a very thin sheath of cytoplasm and a large nucleus. These oocytes correspond to the chromatin-nucleolus stage. This stage may be subdivided into three sub-stages according to the features of the nucleus, viz., pre-synaptic, synaptic and post-synaptic stages.

2) Early peri-nucleolus stage (Figure 2)

The oocytes of this stage show sizes ranging from 0.02 to 0.15 mm in diameter. They have the cytoplasm which stains deeply with haematoxylin. The nucleus is relatively large in size. Within the nucleus there are found many chromatin threads distributed throughout it and many nucleoli arranged themselves on the periphery of the nucleus. The yolk nucleus may be found in the cytoplasm, though it is not so clear as in the following stage. In the early phase

of this stage the yolk nucleus lies close to the nuclear membrane and then moves to the periphery of the cytoplasm with the growth of oocytes. The oocytes are surrounded with a very thin follicular layer.

3) Late peri-nucleolus stage (Figures 3 and 4)

The diameter of oocytes in this stage ranges mostly from 0.11 to 0.16 mm. The cytoplasm loses its good affinity to haematoxylin and tends to be stained only faintly therewith. The yolk nucleus of dot form and of 10∼15 micron diameter is often found situated in the outer part of the cytoplasm. Some oocytes demonstrate the phenomenon of zoned cytoplasm, showing a faintly stained outer layer of smooth structure and a deeply stained inner layer of granular structure. Such a zoning phenomenon has already been reported by Eimer (1872), Scharff (1887), Calderwood (1892), Wallace (1904), Franz (1910), Wheeler (1924) and Yamamoto (1954) in various kinds of fish oocytes. The follicular layer around the oocyte comes to be clear. Many nucleoli of spherical, hemispherical or elliptical shape and of various sizes are situated on the periphery of the nucleus. Black spots of nucleolar size are frequently found in the cytoplasm close to the nucleus. The nucleoplasm contains indistinct chromosomes and minute granules evenly distributed within it.

4) Yolk vesicle stage (Figures 5 and 6)

This is the stage when yolk vesicles are formed in the ooplasm. Most of the oocytes range from 0.15 to 0.35 mm in diameter. The yolk vesicles come into sight as minute bodies situated in the peripheral region of the ooplasm. Then, the vesicles are accumulated centripetally with accompanying enlargement in size. The vesicles at this stage were stained black with Delafield's haematoxylin, if they were fixed with fixatives containing potassium bichromate such as Zenker's, Regaud's and Champy's solutions. The zona radiata is also recognizable between the cytoplasm and the follicular layer. At first the zona radiata is a very narrow, compact and homogeneous layer, and then becomes thick with the growth of oocytes. At the beginning of this stage the nucleus is spherical in form and contains many nucleoli situated on its periphery. In a late phase of this stage it takes a somewhat oval form and becomes irregular in outline. The nucleoli become elliptical, bar-shaped or amoeboidal in form. The yolk vesicles exhibit a strong positive PAS reaction even after treatment with saliva. Therefore, the vesicles of this species contain mucopolysaccharides as has already been established in other fish oocytes (Konopacka, 1935, 1937; Yamamoto, 1955, 1956 c; Arndt, 1956, 1960, etc.).

5) Primary yolk stage (Figure 7)

When yolk vesicles have occupied the outer half zone of the cytoplasm, yolk

globules begin to appear between the vesicles. The formation of the globules proceeds by and by to the inner part of the cytoplasm. The globules are minute and spherical, and stained black with Heidenhain's haematoxylin. Yolk vesicles also increase in size and number during this phase, and occupy the outer two-thirds of the cytoplasm. They come now to show weak affinity to haematoxylin. The follicular layer increases in thickness, especially granulosa cells grow large in size. The zona radiata through which the radial striations are running becomes thick, measuring about 10 micra in thickness. The nucleus has lost its round shape and takes polyhedral form. Nucleoli are distributed at random in the nucleus. The size of the oocytes in this stage ranges from 0.35 to 0.55 mm in diameter.

6) Secondary yolk stage (Figure 8)

Oocytes in this stage measure from 0.45 to 0.75 mm in diameter. Yolk globules seem to be accumulated very rapidly in the inner part of the ooplasm; this accumulation results in the rapid growth of oocytes. Simultaneously with this change, yolk vesicles are gradually shifted outwards to take arrangement in a few rows in the periphery of the ooplasm. The nucleus recovers somewhat its round shape. Nucleoli are almost the same in form, size and distribution as in the previous stage. Sometimes the micropyle can be found with one large micropylar cell.

7) Tertiary yolk stage (Figure 9)

As yolk globules increase further in number and size, oocytes become large, measuring 0.6 to 0.9 mm in diameter. The yolk vesicles distributed in the peripheral region of the oocyte make one or two rows. They seem almost the same in size and number as in the previous stage. The nucleus shows a spherical form and fairly smooth contour. A few nucleoli showing spherical form are located in the interior of the nucleus free from its membrane. The micropyle having a large micropylar cell, is detected at one pole where yolk vesicles are scattered loosely or have disappeared completely.

8) Migratory nucleus stage (Figure 10)

The oocytes in this stage are the same size as those in the previous stage. The nucleus is moving towards the animal pole of the egg; it is nearly circular with smooth contour. Around the nucleus there is found frequently viscid substance stained blue with modified Mallory's azan stains as already seen in flounder's eggs (Yamamoto, 1956 b). Nucleoli are few in number and round in shape. They are situated in the inner part of the nucleus or close to the nuclear membrane. The yolk globules increase further in size, large ones being 26 micra in diameter. The zona radiata of about 7–8 micra in thickness has clear radial striation.

9) Pre-maturation stage (Figure 11)

After the nucleus has arrived at the animal pole, the nuclear membrane disappears suddenly and no boundary can be seen between the nucleoplasm and the cytoplasm. Nucleoli take complicated form and then lose their affinity to the stain and finally fade away. Chromatin elements become thick and round, and are found distributed in the cyto-nucleoplasmic mass of the animal pole. At the animal pole one can find the micropyle nearly completed. The micropylar cell of large size is still found plugging the micropyle canal, but the nucleus of the cell has come to be obscure as already reported by Eigenmann (1890) (Figure 13).

10) Ripe egg stage (Figure 12)

Ripe eggs are demersal and adhesive in nature in living condition. The adhesive nature of the egg appears to be attributed to the very thin porous membrane lying on the outermost part of the egg. The eggs are spherical in form, white in colour and translucent. In fixed condition they measure about 0.9 mm in diameter. The yolk globules of large size are enclosed by cortical cytoplasm which is somewhat thick at the animal pole but becomes thin towards the opposite pole. The cortical alveoli are found embedded in the cortical cytoplasm. Between the yolk globules a network of cytoplasm connected with the cortical layer may be discernible. The zona radiata is 13 micra in thickness. At the animal pole the microyple may be seen.

The oocyte of the gold-fish as well as that of the flounder has two kinds of yolk substances, viz., yolk vesicle and yolk globule. No fatty droplets have been detected at any time in vitellogenesis. In both species yolk vesicles are accumulated from the peripheral region to the inner part of the cytoplasm. The yolk globules begin to appear in the peripheral region when the vesicles have made two or three rows, and then invade the extra-vesicle cytoplasm and finally fill up the inner cytoplasm between the nucleus and the vesicle zone. After that, the formation of the yolk globule becomes more and more active in the inner area, while the formation of the yolk vesicle ceases in time. Thus the most part of the ooplasm is filled with yolk globules; the vesicles change their position to further peripheral region, where they are found forming one or two rows and finally give rise to the cortical alveoli as already ascertained in a variety of fishes (cf. Yamamoto, 1958). In the late phase of vitellogenesis in the flounder the yolk globules come together and make a continuous mass of yolk, while those in the gold-fish do not make a continuous mass of yolk; they remain in the state of large globules. On account of this difference in vitellogenesis, the exact stage corresponding to the maturation stage established in the flounder can not be found in the gold-fish.

Konopacka (1935) made a detailed study of vitellogenesis in the oocyte of the carp. The vitellogenesis in the gold-fish resembles well that observed in that related species, excepting one point that in the carp the yolk vesicles situated in the inner part break down during the late phase of vitellogenesis and contribute to the formation of yolk globules.

3. *Seasonal changes in stage composition*

In order to find out about the developmental rhythm of ovarian eggs, stage composition in the oocytes of ovaries preserved monthly has been determined by counting the oocytes in each stage under the microscope. The oocytes at the chromatin-nucleolus stage were excluded from counting, because their number in this stage is difficult to decide exactly. The obtained results of counting are

Table 1. Seasonal changes of stage composition in oocytes

No.	Date	Ovary weight (g)	Total number of examined eggs	Percentage of oocytes at each stage: Peri-nucleolus stage			Yolk stage			Migratory nucleus stage	Pre-maturation stage	Remarks
				Early	Late	Yolk vesicle stage	Primary	Secondary	Tertiary			
1	Jun. 18	0.1	206	60.7	36.9	2.4						
2	Jul. 20	0.2	241	61.0	29.9	9.1						
3	Aug. 22	0.2	1231	65.1	31.0	3.8						
4	Sep. 21	0.5	179	60.9	30.7	8.4						
5	Oct. 18	0.7	417	46.4	29.3	19.2	2.2					
6	Nov. 10	0.7	437	65.1	24.6	9.3	1.0					
7	Dec. 10	0.7	634	67.4	13.8	17.1	0.6	1.1				
8	Jan. 22	1.5	199	54.8	27.1	8.0	5.5	4.5				
9	Feb. 22	1.2	605	55.7	15.0	14.4	12.7	2.1				
10	Mar. 17	3.0	486	45.9	9.1	23.3	7.3	3.9	10.5			
11	Apr. 16	11.2	461	39.5	17.6	14.2	5.7	4.6	14.6	3.8		
12	May 23	5.5	133	49.1	14.3	14.3	4.4	4.4	10.5	3.0		
13	May 26	8.4	376	42.8	14.6	12.0	7.7	3.5	4.5	9.6	5.3	
14	Jun. 18	2.2	257	46.7	26.6	12.0	6.9	5.4	2.3			Just after spawning
15	Jun. 22	2.5	310	64.2	18.1	7.1	1.9	2.6	6.1			
16	Jun. 30	3.0	689	51.8	17.6	15.8	7.3	5.5	2.0			Just after spawning
17	Jul. 9	3.5	484	51.4	26.1	5.8	2.9	3.6	10.1			
18	Jul. 18	1.2	840	46.9	14.6	16.2	1.1		0.2			21% Atretic oocytes
19	Aug. 19	1.0	821	76.1	19.0	4.8			0.09			
20	Sep. 15	0.8	509	69.2	27.9	2.9						
21	Oct. 18	3.0	758	47.1	23.7	21.8	5.4	2.0				

summarized in Table 1.

During the period from June to September, only oocytes younger than the yolk vesicle stage were found in ovaries corresponding to Gokhale's immature virgin stage. As far as the present results are concerned, no marked differences in stage composition are recognized among ovaries in this season. The oocytes of the early peri-nucleolus stage supply about 60 per cent of all oocytes counted, those of the late peri-nucleolus stage some 30 per cent and of the yolk vesicle stage more or less than 10 per cent. In October, oocytes of the primary yolk stage appeared in the ovary. The frequency of the oocyte at each stage was as follows: The oocytes of the early peri-nucleolus stage were 49.4 per cent, those of the late peri-nucleolus stage 29.3 per cent, and those of the yolk vesicle and of the primary yolk stages were 19.2 and 2.2 per cent respectively. An ovary preserved in November showed almost the same stage composition in oocytes as that in October. These ovaries were in a stage equivalent to Gokhale's developing virgin stage.

In December oocytes of the secondary yolk stage were detected in the ovary. It is noteworthy that the oocytes at the late peri-nucleolus stage decreased to 13.8 per cent, while those laden with yolk totaled up to 18.8 per cent. The same tendency was found in ovaries fixed in January and February. For the oocytes at the late peri-nucleolus stage, values in both months were found at 27.1 and 15.0 per cent respectively. The oocytes at the early peri-nucleolus stage have also decreased somewhat in number. On the contrary, the number of those laden with yolk, especially those of the primary yolk stage and of the secondary yolk stage, tends to increase progressively. The values in January were ascertained to be 5.5 per cent for the primary yolk stage and 4.5 per cent for the secondary yolk stage; those in February were 12.7 and 2.1 per cent respectively. These ovaries were classed in the primary maturing stage of ovarian maturity.

In March the oocytes of the tertiary yolk stage appeared in an ovary at Gokhale's secondary maturing stage. The percentage of oocytes at this stage was counted as 10.5. Oocytes more advanced than the yolk vesicle stage have increased considerably in number over those in the preceding stage. They summed up to 45.0 per cent, while oocytes at the early peri-nucleolus stage and late peri-nucleolus stage decreased markedly in number, the former being 45.9 per cent and the latter 9.1 per cent. The reverse correlation in number between oocytes laden with yolk and those without yolk leads to the supposition that the resource of the current season's crop may depend mainly on the oocytes at the late peri-nucleolus stage and partly on the oocytes at the early peri-nucleolus stage, which have arrived at these stages more than about one year before

spawning.

In April the oocytes of more advanced stage, the migratory nucleus stage, were discernible. Their percentage was 3.8. The oocytes at the tertiary yolk stage indicated a comparatively high percentage as in the preceding month. One ovary preserved in late May contained oocytes showing the same composition of oocyte stages as above. A few days later an ovary corresponding to Gokhale's full stage was collected from a fish which was exhibiting distinct courtship behaviour. Such a fish should spawn within a few days if she was kept in an aquarium with some males. The stage composition of oocytes was characterized by high percentage of oocytes at the migratory nucleus and pre-maturation stages. The values were 9.6 for the former and 5.3 for the latter. Two fish killed on June 18 and 30 just after spawning possessed ovaries apparently in Gokhale's secondary maturing stage. No oocytes corresponding to the migratory nucleus stage or the pre-maturation stage could be found in the ovaries. These ovaries could be distinguished easily from those of May ranked of the same ovarian maturity due to the presence of empty follicles and low percentage of oocytes at the tertiary yolk stage (Figure 16). From the above observations it is most reasonable to suppose that oocytes advanced beyond the migratory nucleus stage develop quickly into ripe eggs and that they should be laid at one time. A datum obtained shows that the presumptive eggs laid in the primary spawning amount to more or less than 15 per cent of the total oocytes counted.

The fish preserved on June 22 and July 9 showed stage composition in oocytes the same as in those just spawned. Empty follicles, though they had now become small in size due perhaps to absorption, were also found within the ovaries. It is certain that in these fish at the time of sacrificing a pretty long time had elapsed since spawning. Stage composition in oocytes of these ovaries was striking in high percentage of oocytes at the tertiary yolk stage in comparison with those in ovaries just spawned. As some fish in the same group spawned after the time when the above fish were killed, it is reasonable to suppose that these fish might have spawned once more if they had been cultured longer.

A fish killed on July 18 yielded an ovary showing an interesting feature. At first sight the preparations from this ovary resembled those from ovaries just spawned. However, careful observations revealed a marked difference between the two. In this ovary, only a small percentage of oocytes laden with yolk were healthy and most of them were beginning to show degeneration. The degenerating oocytes had characteristic deformed shapes, hypertrophied granulosa cells, deformed yolk globules and the zona radiata broken into fragments. Oocytes from such an ovary seem to correspond to the primary, secondary and tertiary

yolk stages, and also to the yolk vesicle stage, though the correct stage of each oocyte could not be detected. They amounted to 21 per cent of the total oocytes counted. A spent ovary preserved on August 19, when the spawning season had completely ended, contained a lot of atretic oocytes as above. Degeneration in these oocytes was so striking, that it is now impossible to decide the number of these degenerating oocytes (Figure 17). The findings on the processes of degeneration agree well with the detailed observations of Bretschneider and De Wit (1947) and of Beach (1959). Throughout this season there could not be found a notable number of yolk-less oocytes showing the degenerating figures, though many of them showed the cytoplasm zonning phenomenon.

In September, only traces of atretic oocytes were detected in the recovering ovary (Figure 18). The characters of oocyte stage in this ovary resembled well those of immature virgin ovaries. The ovary contained a majority of yolk-less oocytes and a small number of oocytes with yolk vesicles. A two year fish killed in October yielded an ovary at the primary maturing stage. In the ovary, oocytes at the primary yolk stage and even at the secondary yolk stage were detected. This suggests that the oocytes develop faster in a two year fish than in a one year fish.

From the findings obtained from the spent and recovering ovaries it is most reasonable to surmise that near the end of the spawning season many of the oocytes with yolk fail in maturation and they remain in the spent ovary for a while, but all of them were absorbed during the phase of recovery, while most of yolk-less oocytes found in spent ovaries, which were denominated by Hickling (1930) as "reserve fund eggs", and by Vladykov (1956) as "recruitment stock" eggs, remain unabsorbed in the ovary and give rise to mature eggs during the following season.

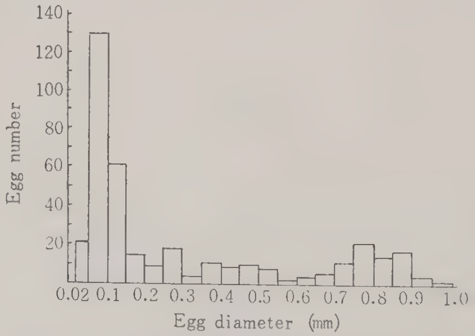
Discussion

So far, the rhythm of development of animal oocytes may be classified into three main types, that is, total synchronism, group synchronism and asynchronism (Marza, 1938).

In the species belonging to the type of total synchronism, all oocytes in an ovary develop synchronously. In the classes of Cyclostomata and Piscis, only two species, *Petromyzon planeri* (Champy et Gley, 1923) and *Oncorhynchus masou* (Yamamoto *et al*. 1959) have so far been ascertained to come under this type. These species show characteristic reproductive behaviour with spawning once in a life followed by death. The type of group synchronism is most common in the fish kingdom. Near the spawning season, two groups of oocytes are recognized

in an ovary, which are distinguished clearly from each other by their developmental stage. One group is composed of large and maturing oocytes. They are destined to become the current season's crop. The other consists of very small and yolk-less oocytes. They may be the recruitment stock for the following year. Herrings (Hickling & Rutenberg, 1936; Yamamoto *et al.* 1959), speckled trout (Vladykov, 1956) and flounders (Yamamoto, 1956 a) are the typical species belonging to this type. The fish of this type usually spawn once in a year and will do so several times in a lifetime. Their spawning season is ordinarily short and definite. The fish belonging to the type of asynchronism are also numerous. They have an ovary containing various kinds of developing oocytes. Sardines (Clark, 1934; Andreu & Pinto, 1957; Ishida *et al.* 1959), and Atka mackerel (Kambara *et al.* 1953) belong to this type. They have a comparatively long spawning season and ordinarily spawn several times within a season. As stated above, the gold-fish belongs naturally to this type.

From the view point of fishery biology, it is most urgent to clear up the frequency of spawning and the number of eggs laid each time in fishes showing multiplicity of spawning. Studies along this line have been made by Clark (1934) about the California sardine, by Kambara *et al.* (1953) about Atka mackerel and by Andreu and Pinto (1957) about the European sardine. They determined the frequency of spawning and the number of eggs laid by these fishes by examining seasonal changes in the frequency curves of egg diameter. However, this method seems not enough for the investigations on *Carassius auratus*. As shown in Text-figure 2, the frequency curve of egg diameter from an ovary



Text-Fig. 2. Size composition of the oocytes from an ovary at the full stage

of the full stage preserved in May represents at least three distinct groups of oocytes, i. e., large oocytes measuring from 0.65 to 1.0 mm in diameter, medium oocytes from 0.35 to 0.55 mm and small oocytes from 0.02 to 0.2 mm. This



Text-Fig. 3. Size composition of the oocytes in each stage, from the same ovary as in Text-Fig. 2. For explanation see text

observation creates the impression that each of these groups consists of oocytes which are destined to be developed and laid at one time. However, if the curve is examined by analyzing it into the graphs of oocytes of every maturity stage (Text-figure 3), it can be readily understood that each group of oocytes recognized in Text-figure 2 consists of oocytes of several stages. For instance, the group of large oocytes contains individuals at the tertiary yolk stage, migratory nucleus stage and pre-maturation stage. Examinations of the materials just after spawning showed that in the gold-fish the oocytes advanced beyond the migratory nucleus stage are spawned at one time while those of the tertiary yolk stage remain in the ovary as the resource of the next spawning. This proves that the groups of oocytes judged from egg diameter do not coincide exactly with the groups spawned actually.

As stated above, there is little doubt that oocytes advanced beyond the

migratory nucleus stage should be spawned at one time. Thus, there is need here to consider whether all of the corresponding oocytes found in sections should be laid or not.

Clark (1934) has already detected the fact that in the sardine some of the ripe eggs remain unspawned in the ovaries. The same phenomenon was ascertained in various kinds of fishes (Kambara *et al.* 1953; Vladykov, 1956; Suzuki *et al.* 1957). In the gold-fish this might also be the case, but under normal conditions these unspawned eggs are so few as to be negligible. Therefore, the number of eggs spawned in one time may be determined fairly exactly by counting the oocytes advanced beyond the migratory nucleus stage in the ripe ovary; such value was found in the present study to be some 15 per cent of all oocytes counted.

Next, some mention should be made regarding the possibility whether the secondary group of oocytes spawned simultaneously can be detected by means of histological investigations like the present one.

As the oocytes at the primary, secondary and tertiary yolk stages were rarely found in spent ovaries, it is fairly reasonable to surmise that most of these oocytes found in the early phase of spawning season may probably be ripened and spawned during the same spawning season.

This supposition may be supported by the following items of evidence: (1) The total number of these oocytes is almost the same in all ovaries preserved during any one spawning season. The number of these oocytes totals about 15 per cent, which agrees well with the number of eggs laid in the primary spawning. (2) Among the oocytes of the 3 above-noted stages those at the tertiary yolk stage increase in number with the elapse of time after spawning; for instance, the ovaries preserved on June 18 just after the primary spawning (no. 14) contain 2.3 per cent of the corresponding oocytes, while the ovary examined a rather long time after the primary spawning (no. 17) contains 10.1 per cent of the oocytes. Therefore, the oocytes at the primary, secondary and tertiary yolk stages found in such ovaries as above may be regarded as the secondary group of eggs spawned. During the maturation of oocytes laden with yolk, the reduction in number of eggs due to atresia was ascertained in the plaice (Cunningham, 1898) and in the speckled trout (Vladykov, 1956). In the gold-fish, the same phenomenon was also observed in the present study, though such atretic oocytes were not many in number. Thus, the number of eggs spawned in the secondary time may be reduced somewhat from the presumptive eggs of the secondary group counted in the present study.

In connection with this, there is a noteworthy fact to be considered here.

As stated above, near the end of the spawning season, degeneration and absorption of oocytes laden with yolk were usually found. No marked difference was found in stage composition of the oocytes between the atretic group and the spawning group present in the ovary soon after spawning. Therefore, in the late phase of the spawning season it is very difficult to decide whether the group of oocytes laden with yolk will proceed to spawning or to degeneration. The presence of many atretic oocytes in the spent ovary has already been ascertained in fishes mostly showing the multiplicity of spawning, such as the hake (Hickling, 1930), minnow (Matthews, 1938), bitterling (Bretschneider & De Wit, 1947), sardine (Andreu & Pinto, 1957), and also mackerels (Tateishi *et al.* 1957), while the flounder (Yamamoto, 1956 a) and herring held only a few of such atretic eggs in spent ovaries. This suggests that the presence of many atretic eggs in the spent ovary is a characteristic feature found in the fish of the type of asynchronism.

As already emphasized by Hickling (1930) in the hake, Yamamoto (1956 a) in the flounder and by Vladykov (1956) in the speckled trout, it may also be true in the gold-fish that the oocytes at the early and late peri-nucleolus stages found in both developing virgin ovaries and in recovering ovaries are the source of eggs spawned in the current season, whilst those found in full and running ovaries remain unabsorbed and give rise to the recruitment stock for the following year's spawning.

Although the origin and development of these yolk-less oocytes are important and urgent problems to be settled, this study could not cover them.

Summary

The rhythm of development in the oocyte of the gold-fish, *Carassius auratus* has been studied mainly by histological methods using one year and two year old fish as materials. The results obtained are summarized as follows:

1. Macroscopically, seasonal changes in the ovary are characterized by the occurrence of ovaries in several stages of maturity during a spawning season.
2. The morphological changes in maturing oocytes were described in ten stages. The oocyte has two kinds of yolky substance, yolk vesicle and yolk globule. No fatty droplets have been detected at any time during vitellogenesis. The yolk globules do not make a continuous mass of yolk but remain in the state of large globules.
3. The stage composition in oocytes shows characteristic features of the type of asynchronism, that is, the ovary in the full stage contains oocytes of all degrees of maturity.
4. Three groups of oocytes are recognized in the ovary of the full stage, the

first group is composed of oocytes more advanced than the migratory nucleus stage, the second group is composed of oocytes at the primary, secondary and tertiary yolk stages, and the third group comprises small, yolk-less oocytes.

5. It seems probable that the oocytes advanced beyond the migratory nucleus stage should be spawned simultaneously as one group.

6. There are some items of evidence favorable to the supposition that the oocytes of the second group found in the early phase of the spawning season may be ripened and spawned during the same spawning season as the secondary group of eggs.

7. The third group of oocytes corresponding to the early and late peri-nucleolus stages appear to remain in the ovary and give rise to the recruitment stock for the following year's spawning.

8. Degeneration and absorption in the oocytes laden with yolk were usually found in ovaries near the end of the spawning season.

Literature

Andreu, B. & Pnito, J. D. S. (1957). Características histológicas y biométricas del ovario de sardina (*Sardina pilchardus Walb.*) en la maduración, puesta y recuperación. *Invest. Presquera* 6, 3–38.

Arndt, E. A. (1956). Histologische und histochemische Untersuchungen über die Oogenese und bipolare Differenzierung von Süsswasser-Teleosteern. *Protoplasma* 47, 1–36.

——— (1960). Über die Rindenvakuolen der Teleosteeroocyten. *Zeit. Zellforsch.* 51, 209–224.

Beach, A. W. (1959). Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the goldfish. *Canad. Jour. Zool.* 37, 615–625.

Bretschneider, L. H. & De Wit, J. J. D. (1947). *Sexual endocrinology of non-mammalian vertebrates.* 146 p. Amsterdam; Elsevier Publishing Co.

Calderwood, W. L. (1892). Contribution to the knowledge of the ovary and intra-ovarian egg in Teleosteans. *J. Mar. Biol. Asso.* 2, 298–312.

Champy, C. & Gley, P. (1923). Observations cytologiques sur les ovocytes des poissons et de quelques autres vertébrés. *Arch. Anat. Micro.* 19, 241–308.

Clark, F. N. (1934). Maturity of the California sardine (*Sardina caerulea*), determined by ova diameter measurements. *Fish. Bull.* 42, 1–49.

Cunningham, J. T. (1898). On the histology of the ovary and of the ovarian ova in certain marine fishes. *Quart. J. Micro. Sci.* 40, 101–159.

Eimer, Th. (1872). Untersuchungen über die Eier der Reptilien und Fische. *Arch. Mikro. Anat.* 8, 397–434.

Eigenmann, C. H. (1890). On the egg-membrane and micropyle of some osseous fishes. *Bull. Museum Comp. Zool. Harvard Coll.* 19, 129–154.

Franz, V. (1910). Die Eiproduktion der Scholle. *Wiss. Meeresunter., Abt. Helgoland* **9**, 63–141.

Gokhale, S. V. (1957). Seasonal histological changes in the gonads of the whiting (*Gadus merlangus* L.) and the Norway pout (*G. esmarkii* N.). *Indian Jour. Fisheries* **4**, 92–122.

Hickling, C. F. (1930). The natural history of the hake. III. Seasonal changes in the condition of the hake. *Fish Invest.* **12**, 1–78.

Hickling, C. F. & Rutenberg, E. (1936). The ovary as indicator of spawning period of fishes. *J. Mar. Biol. Asso.* **21**, 311–317.

Ishida, R., Ukawa, M. & Arita, S. (1959). On the number of spawning times of sardine, *Sardinops melanosticta* (T. & S.) (in Japanese, with English summary). *Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab.* **20**, 139–144.

Kambara, H., Tanino, Y., Tsujisaki, H., Takasugi, S. & Ono, K. (1953). Studies on the Hokke (*Pleurogrammus azonus* Jordan and Metz). 1. The spawning season and the multiplicity of spawning. (in Japanese, with English summary) *Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab.* **9**, 57–66.

Konopacka, B. (1935). Recherches histochimiques sur le développement des Poissons. 1. La vitellogénèse chez le Goujon et la Carpe. *Bull. Acad. Polonaise Sci. et Let.* **3**, 163–182.

――――― (1397). Recherches histochimiques sur le développement des Poissons. II. La vitellogenèse chez certains Téléosteens de mer (*Gobius paganellus*, *Smaris alcedo*, *Crenilabrus pavo*, *Atherina Boyeri* et *A. hepsetus*). *Bull. Staz. Zool. Napoli* **16**, 327–362.

Marza, V. D. (1938). *Histophysiologie de l'ovogenèse.* 81 p. Paris, Hermann & Cie Éditeurs.

Matthews, S. A. (1938). The seasonal cycle in the gonads of *Fundulus*. *Biol. Bull.* **75**, 66–74.

Scharff, R. (1887). On the intra-ovarian egg of some osseous fishes. *Quart. J. Micro. Sci.* **28**, 53–74.

Suzuki, N., Shiraishi, Y. & Yoshihara, S. (1957). Fishery-biological studies on Amago in Mano river in Mie Prefecture. 3. On the gonad (in Japanese). *Contri. from Fresh-water Fish. Res. Lab.* **15**, 1-17.

Tateishi, S., Kô, Y. & Mizue, K. (1957). Studies on the gonads of mackerels. 1. Seasonal variation of the gonads of Japanese mackerel, *Scomber japonicus* (in Japanese, with English summary). *Suisangaku shusei* 797-802.

Vladykov, V. D. (1956). Fecundity of wild speckled trout (*Salvelinus fontinalis*) in Quebec Lakes. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **13**, 799-841.

Wallace, W. (1904). Observations on ovarian ova and follicles in certain Teleostean and Elasmobranch fishes. *Quart. J. Micro. Sci.* **47**, 161–213.

Wheeler, J. F. G. (1924). The growth of the egg in the dab (*Pleuronectes limanda*). *Quart. J. Micro. Sci.* **68**, 641-660.

Yamamoto, K. (1954). Formation of the cytoplasmic circular zone in the oocytes of the flounder, *Liopsetta obscura* (in Japanese, with English summary). *Zool. Mag.* **63**, 47-50.

—— (1955). Studies on the formation of fish eggs. VI. The chemical nature and the origin of the yolk vesicle in the oocyte of the smelt, *Hypomesus japonicus*. *Annot. Zool. Japon.* 28, 233–237.

—— (1956 a). Studies on the formation of fish eggs. I. Annual cycle in the development of ovarian eggs in the flounder, *Liopsetta obscura*. *Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ., S. VI.* 12, 362–373.

—— (1956 b). Studies on the formation of fish eggs. III. Localization of polysaccharides in oocytes of *Liopsetta obscura*. *Ibid.* 12, 391–399.

—— (1956 c). Studies on the formation of fish eggs. VII. The fate of the yolk vesicle in the oocytes of the herring, *Clupea pallasii* during vitellogenesis. *Annot. Zool. Japon.* 29, 91–96.

—— (1958). Vitellogenesis in fish eggs (in Japanese, with English summary). *Symposia. Cell. Chem.* 8, 119–134.

Yamamoto, K., Kai, H. & Ishida, R. (1959). A preliminary report on the formation of the egg of the trout, *Oncorhynchus masou* (in Japanese, with English summary). *Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab.* 20, 109–116.

EXPLANATION OF PLATES

Plate I

All figures are photomicrographs of sections from the oocytes of the gold-fish.

Fig. 1. Oocytes in the chromatin-nucleolus stage. Zenker's solution and Heidenhain's haematoxylin preparation. ×1400

Fig. 2. Oocytes in the early peri-nucleolus stage. Zenker's solution and Heidenhain's haematoxylin preparation. ×550

Fig. 3. Oocyte in the late peri-nucleolus stage. Zenker's solution and Delafield's haematoxylin preparation. ×270

Fig. 4. Oocyte showing phenomenon of cytoplasm zoning, the same stage as above. Zenker's solution and Heidenhain's haematoxylin preparation. *yn* yolk nucleus. ×220

Fig. 5. Oocyte in the early phase of yolk vesicle stage. Bouin's solution and PAS preparation. *yv* yolk vesicle. ×120

Fig. 6. Oocyte in the late phase of yolk vesicle stage. Zenker's solution and Delafield's haematoxylin preparation. ×120

Fig. 7. Oocyte in the primary yolk stage. Bouin's solution and Heidenhain's haematoxylin preparation. ×105

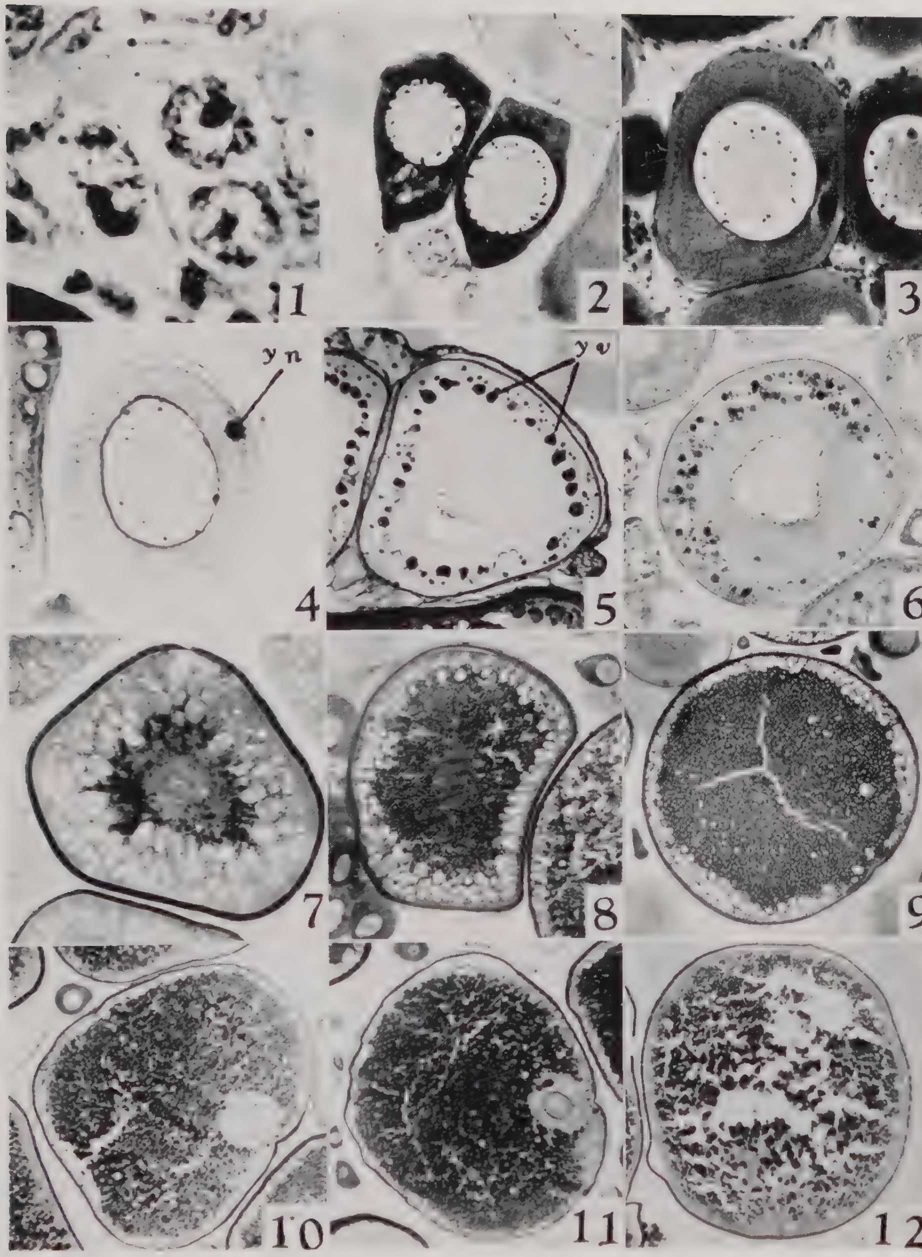
Fig. 8. Oocyte at the secondary yolk stage. Bouin's solution and Delafield's haematoxylin preparation. ×60

Fig. 9. Oocyte at the tertiary yolk stage. Bouin's solution and Mallory's stain preparation. ×42

Fig. 10. Oocyte at the migratory nucleus stage. Bouin's solution and Mallory's stain preparation. ×42

Fig. 11. Oocyte at the pre-maturation stage. Bouin's solution and Mallory's stain preparation. ×42

Fig. 12. Egg at the ripe egg stage. Bouin's solution and Mallory's stain preparation. ×40



K. Yamamoto and F. Yamazaki: Rhythm of Development in Gold-fish Oocytes

Plate II

Fig. 13. Micropyle of an oocyte at the pre-maturation stage. Bouin's solution and Mallory's stain preparation. *mpc* micropylar cell. ×330

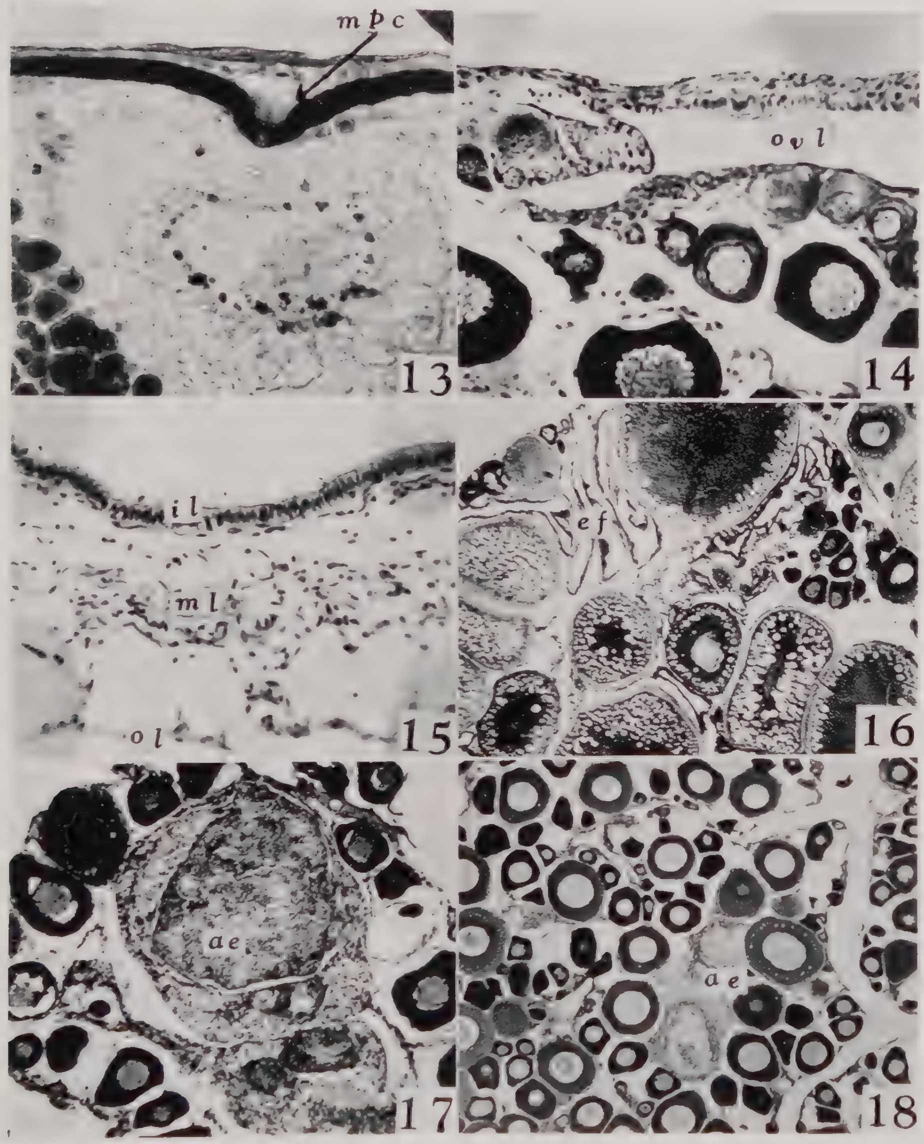
Fig. 14. Portion of an ovary, showing the ovarian lumen. Bouin's solution and Delafield's haematoxylin preparation. *ovl* ovarian lumen. ×230

Fig. 15. Wall of ovarian lumen. Bouin's solution and Delafield's haematoxylin preparation. *il* inner layer: *ml* middle layer: *ol* outer layer. ×270

Fig. 16. Portion of the ovary from a fish killed just after spawning. Bouin's solution and Delafield's haematoxylin preparation. *ef* empty follicle. ×43

Fig. 17. Portion of the ovary from a fish killed on August 15. Bouin's solution and Delafield's haematoxylin preparation. *ae* atretic egg. ×90

Fig. 18. Portion of an ovary from a fish killed on September 13. *ae* atretic egg. ×50



K. Yamamoto and F. Yamazaki: Rhythm of Development in Gold-fish Oocytes

北西太平洋水域におけるキタイカナゴ *AMMODYTES HEXAPTERUS* PALLAS 幼稚魚の形態，脊椎骨数の変異及び体長組成に就いて*

小　林　喜　雄
(北海道大学水産学部水産動物学教室)

Larvae and young of the Sand-lance, *Ammodytes hexapterus* *PALLAS* from the North Pacific

Kiyu KOBAYASHI

Abstract

One thousand six hundred and seventy-one specimens of larvae and young of the sand-lance, *Ammodytes hexapterus* PALLAS were collected from the surface layer of waters in the north-western North Pacific including the Okhotsk Sea and the Bering Sea by a larva net during the period from June to August each year in the years 1955-1960. The results obtained from observations on the specimens are as follows:

1. Bodily characteristics were observed on five specimens from 12.6 mm to 31.0 mm total length. Head length is 15 percent of total length. The anus is situated slightly posterior to the middle of the body. These characters remain the same through all stages.

Fin rays appear first in all fins in a specimen of 16.6 mm total length. They attain to the full number in pectoral fins at 21.1 mm, in anal fin at 26.7 mm and in dorsal fin at 31.0 mm total length.

Myotomes numbered 70 to 71 in these five specimens. Urochord becomes invisible from surface finally in a specimen of 21.1 mm total length.

Some pigments are distributed on upper margin of the position of intestine from breast to anus and on the base of anal fin in a line. Some pigments are also present on almost all parts of the body surface and they increase with the growth of the body.

2. Vertebral number was counted by the radiograph or the method of borax carmine staining on 471 specimens. The number varies with latitude, increasing from south to north as follows.

Okhotsk Sea Southern area (45°～50°N) (Vert. 67.61±1.47) ＜ Okhotsk Sea Middle area (50°～55°N) (Vert. 68.61±1.62)

Bering Sea Southern area (50°～55°N) (Vert. 68.58±1.71) · Bering Sea Middle area (55°～60°N) (Vert. 68.23±1.95) ＜ Bering Sea Northern area (60°～65°N) (Vert. 70.04±2.21)

3. Body-length composition (represented by total-length) was examined on 1473

* 北海道大学練習船調査報告 No. 20

specimens. In both the Okhotsk Sea and the Bering Sea the samples from the southern area are larger than those from the northern area as follows.
Okhotsk Sea: Southern area (45°~50°N) > Middle area (50°~55°N)
Bering Sea: Southern area (50°~55°N) > Middle area (55°~60°N) > Northern area (60°~65°N)
In the same latitude (50°~55°N): Okhotsk Sea < Bering Sea

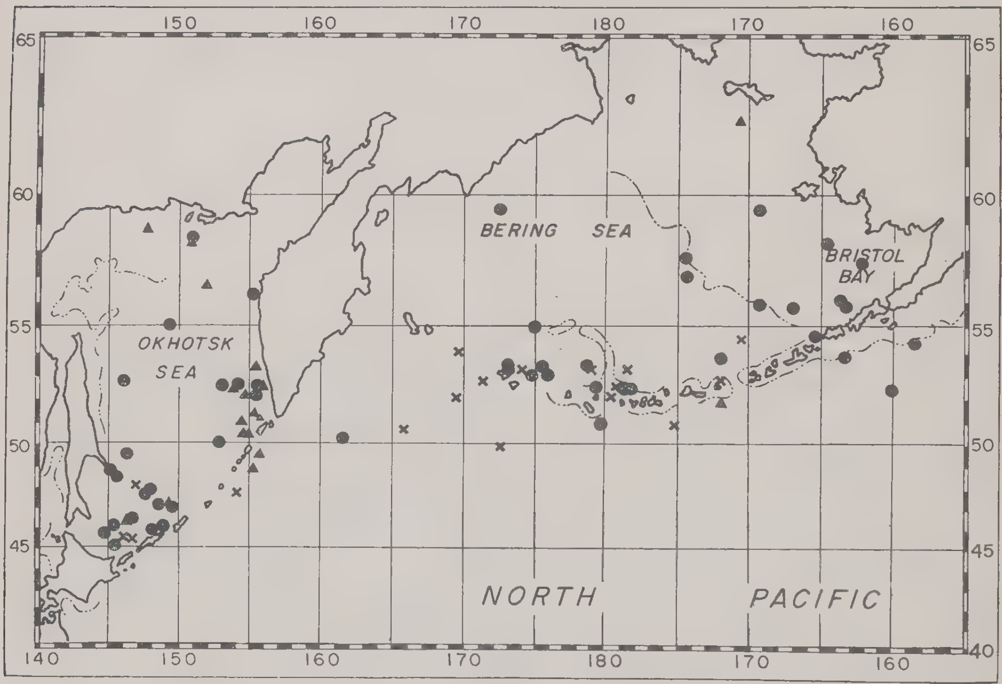


Fig. 1. Locations of collection of larvae and young of the sand-lance, *Ammodytes hexapterus* PALLAS in the north-western North Pacific, from 1955 to 1960
×: June ●: July ▲: August

従来北太平洋産のイカナゴ属 *Ammodytes* にはキタイカナゴ *A. hexapterus* PALLAS 及びイカナゴ *A. personatus* GIRARD の 2 種が知られ，これらの種の異同に関しては Lindberg ('37), 川村 ('40), Andriashev ('54) 及び松原 ('55) 等に依つて論議され，特にイカナゴ *A. personatus* に就いては漁業生物学的見地からも数多くの研究報告がある。

キタイカナゴ *A. hexapterus* の稚魚期の形態に就いては，Kazanowa ('59) が択捉島南岸で 9 月中旬に採集した全長 7.0~8.5 mm の 4 個体の標本に基いて報告して居る。又其の報告中に "Rass が 1949 年の秋に，更に成長した多くの幼魚を其の水域で観察した" と述べて居るが，其の形態の詳細に就いては記述がない。

筆者は 1955~1960 年に亘り，毎年 6~8 月の間，オホーツク海及びベーリング海を含む北西太平洋水域において，北洋漁業調査資料の一部として，北海道大学練習船おしよろ丸及び北星丸に依り，主として稚魚ネット表層採集［採集記録は海洋漁業要報（北大水産）No. 1~5］に依つて蒐められた

キタイカナゴ *A. hexapterus* の資料に基いて，其の幼稚魚期の形態，採集全域に亘る脊椎骨数の変異及び体長組成等に就いて観察した。

尚標本の採集地点は第 1 図に示す如くで，1955～1960年に亘る水域別，時期別採集個体数は第 1 表の通りである。

Table 1. Number collected of larvae and young of the sand-lance, *Ammodytes hexapterus* PALLAS in the north-western North Pacific, from 1955 to 1960

Date \ Locality	Okhotsk Sea 45°～50°N	Okhotsk Sea 50°～55°N	Okhotsk Sea 55°～60°N	Okhotsk Sea Total	Bering Sea 45°～50°N	Bering Sea 50°～55°N	Bering Sea 55°～60°N	Bering Sea 60°～65°N	Bering Sea Total	Total
June	12			12	3	259			262	274
July	235	79	16	330		166	739		905	1235
August	3	70	5	78	10	50		24	84	162
Total	250	149	21	420	13	475	739	24	1251	1671

本論に入るに先立ち，終始御指導を賜わつた北海道大学水産学部教授岡田鴦博士に深甚なる謝意を捧げる。又本研究資料の採集に御協力を得た北海道大学練習船おしよろ丸船長藤井武治氏および北星丸船長三島清吉氏以下両船乗組員各位，並びに各年に亘る調査員各位に感謝する。

幼 稚 魚 の 形 態

採集標本中，幼稚魚期の各段階を示す代表として下記の 5 個体をとり，その形態を記述する。

標本番号 L-1697 (A～E)

採集年月日時：1959，7，1，21:25；採集位置：55°40'N，167°06'W

"A"　全長 12.6 mm　(Fig. 2, A)

頭は小さく，頭長は全長の約 13%。肛門は体の中央よりやや後方に位置し，吻端よりの距離は全長の約 57% である。眼径は全長の約 4%。

[illegible]胸鰭は小さく鰭条は未だ不明瞭である。尾索が尾鰭上縁を縁取る様に見られ，尾鰭条は約 10 条。筋節数は約 70。

[illegible]頭部及び尾鰭基部にも僅かに認められる。

"B"　全長 16.6 mm　(Fig. 2, B)

頭長は全長の約 15%。肛門は体の中央よりやや後方に位置し，吻端よりの距離は全長の約 57%である。眼径は全長の約 4%。

鰭条は背鰭に約 24 条，臀鰭に約 26 条及び胸鰭に約 7 条が数えられる。尾鰭には尾索が尚僅かに認められ鰭条は可成り良く発達する。筋節数は 70。

色素胞は胸部より肛門に至る腸上縁に沿つて並び，尾部では臀鰭基底に沿つて並ぶ他，頭頂部に 1 個，背鰭基底近くに数個が見られ，尾鰭基部，胸鰭基部にも僅かに見られる。

"C"　全長 21.1 mm (Fig. 2, C)

体長 19.1 mm [illegible] 14% [illegible]

長の約 56% である。眼径は全長の約 37%。

鰭条は背鰭に約 28 条，臀鰭に約 27 条が数えられる。胸鰭条は 14 条で成魚の定数に達する。尾鰭には尾索の先端が僅かに認められ，尾鰭条は良く発達する。筋節数は約 70。

色素胞は胸部より肛門に至る腸上縁に沿つて一列に並び，尾部では臀鰭基底に沿つて並ぶ他，頭頂部に 2 個，背鰭基底部に数個又胸鰭基部前部にも見られる。尾鰭基部の色素胞が顕著である。

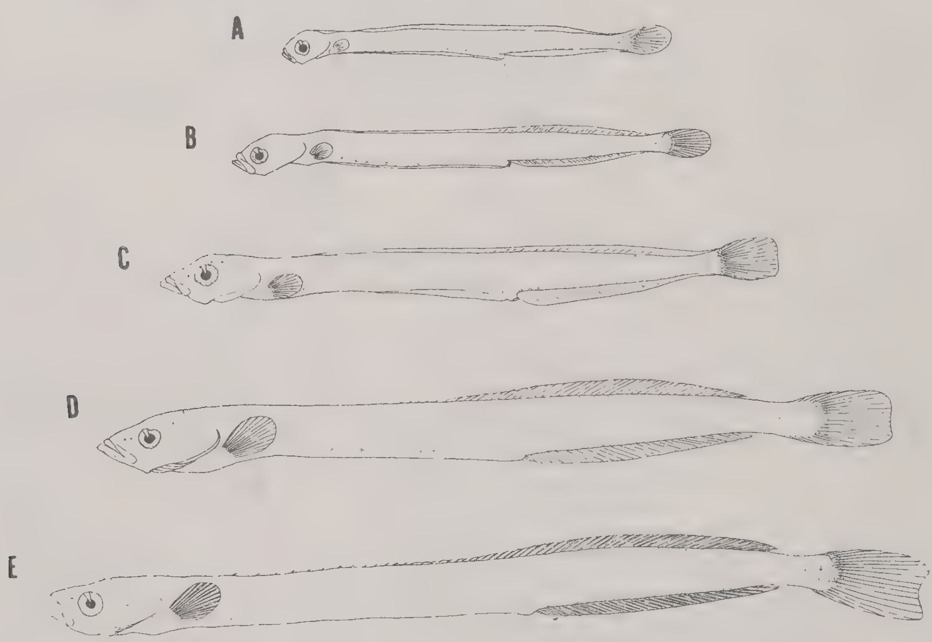


Fig. 2. Larvae and young of the sand-lance, *Ammodytes hexapterus* PALLAS (No. L-1697)
A : T. L. 12.6 mm; B : T. L. 16.6 mm; C : T. L. 21.1 mm;
D : T. L. 26.7 mm; E : T. L. 31.0 mm

"D" 全長 26.7 mm (Fig. 2, D)

体長 24.6 mm。頭長は全長の約 16%。肛門は体の中央よりやや後位にあり，吻端よりの距離は全長の約 55% である。眼径は全長の約 3%。

鰭条は背鰭で約 39 条が数えられるが，其の前部鰭条は極めて不明瞭である。臀鰭では 30 条，胸鰭では 13 条が数えられ何れも成魚の定数に達する。尾鰭条は良く発達し，尾索は認められない。又尾鰭後縁は僅かに凹む。筋節数は約 70。

色素胞は胸部より肛門に至る腸上縁に沿つて一列に並び，尾部では臀鰭基底に沿つて並ぶ他，頭頂部及び鰓蓋部に数個，背鰭基底に沿つて数個が見られる。尾鰭基部の色素は顕著で鰭上にも及ぶ，又尾柄部に数個が認められる。胸鰭基部前方に数個の色素斑がある。

"E" 全長 31.0 mm (Fig. 2, E)

D. 56; A. 30; P. 13

体長 27.0 mm。頭長は全長の約 15%。肛門は体の中央よりやや後位にあり，吻端よりの距離は全

長の 55% である。眼径は全長の 3.8%。

鰭条は何れも定数に達するが，背鰭前部の鰭条は極めて低い。尾鰭後縁は半月形となる。筋節数は約 71。

色素胞は頭部では吻端部，鰓蓋部及び眼下部に見られる。胸部では胸鰭基部前方に数個の色素斑があり，胸部から肛門に至る腸上縁に沿つて並ぶ色素胞は後部では不明瞭であるが，肛門附近に数個がある。尾部では[illegible]，尾鰭基部の色素胞は多く，尾柄部に数個見られる。

Kazanowa ('59) の全長 7.0~8.5 mm の標本に関する記載と共に，上記 5 標本に基き其の成長に伴う形態の変化に就いて考察する。

頭は小さく，頭長は全長の約 15% で，特に成長に伴う変化は見られない。

肛門の位置は体の中央よりやや後位で，特に成長に伴う変化は見られない。

鰭は全長 12.6 mm で尾鰭条が現われるが，体は稚魚鰭膜に囲まれる。全長 16.6 mm で各鰭条が発現し始め，全長 21.1 mm で胸鰭条が定数に達し，全長 26.7 mm で臀鰭条が，又全長 31.0 mm で背鰭条が定数に達する。然し尚背鰭前部の鰭条の発達は不完全で極めて低い。

筋節数は 5 個の標本を通じて 70~71 が数えられる。尾索は全長 21.1 mm で殆んど認められなくなる。色素胞は，頭部では全長 16.6 mm で[illegible]部に現われ次第に鰓蓋部，眼下部に増加する。胸部では[illegible]，又臀鰭基底に沿つて並ぶ。又尾部では全長 16.6 mm [illegible]，次第に増加する。尾鰭基部の色素は各段階を通じて見られ，成長に伴つて増加する。又尾柄部に全長 26.7 mm のもので 1 個現われ，全長 31.0 mm では数個が見られる。尚胸鰭基部前方に各段階を通じて色素斑があり，成長に伴つて増加する。

幼稚魚の脊椎骨数の変異

標本 471 個体に就いて水域別に脊椎骨数（尾下骨を含む）を算定した結果は第 2 表の如くである。算定方法は X-ray 又は Borax Carmine 染色に依つた。尚オホーツク海南部水域における採集標本中には脊椎骨数組成から見てイカナゴ *A. personatus* に該当すると思われる標本が混在したがこれらは予め除外した。

第 2 表に示す如く，オホーツク海における南部水域（45°~50°N）と中部水域（50°~55°N）を比較すると，南部水域では平均 67.61±1.47 個（64~70 個，53 個体），中部水域では平均 68.61±1.62 個（65~73 個，132 個体）である。$\frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} > 3$ なる時に両平均値間に有意差があると見做せば，両水域の間には明らかに有意の差があり，脊椎骨数に関して両水域は次の関係にある。　南部水域＜中部水域。　北部水域（50°~60°N）については標本不足のため比較が出来ない。

ベーリング海においては南部水域（50°~55°N のアリューシャン列島周辺水域），中部水域（55°~60°N のベーリング海東部水域）及び北部水域（60°~65°N のベーリング海北部水域）の 3 水域に分けて比較すると，南部水域では平均 68.58±1.71 個（65~74 個，134 個体），中部水域では平均68.23±1.91 個（64~73 個，129 個体）で両水域の間には有意差が認められない。次に北部水域では標本数が少く満足すべき結論を出し難いが平均 70.04±2.21 個（65~73 個，22 個体）で，南部水域及び中部水域の何れの水域との間にも有意の差が認められる。即ち脊椎骨数に関して 3 水域は次の関係にある。　南部水域≒中部水域＜北部水域。

次に同緯度間（50°~55°N）にあるオホーツク海中部水域とベーリング海南部水域を比較すると，前

Table 2. Variation of vertebral number in the sand-lance, *Ammodytes hexapterus* PALLAS

Number of Vertebrae	Okhotsk Sea (Number)				Bering Sea (Number)			
	45°～50°N	50°～55°N	55°～60°N	Total	50°～55°N	55°～60°N	60°～65°N	Total
64	1			1		4		4
65	5	5		10	2	8	1	11
66	6	7		13	6	12	0	18
67	10	20		30	5	22	2	29
68	15	26		41	24	22		47
69	12	41		53	38	31	6	75
70	4	19	1	24	28	15	2	45
71		9		9	11	9	4	24
72		2		2	15	3	1	19
73		3		3	3	3	5	11
74					2			2
Total (n)	53	132	1	186	134	129	22	285
Mean value (M)	67.61	68.61		68.33	68.58	68.23	70.04	68.94
Standard deviation (σ)	1.47	1.62		1.67	1.71	1.95	2.21	1.99
Sampling error $\left(m=\frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right)$	0.20	0.14		0.12	0.01	0.47	0.47	0.11

者では 68.61±1.62 個，後者では 68.58±1.71 個で両水域間には有意の差が認められない。従つてオホーツク海又びベーリング海両海域を通じて，脊椎骨数に関して次の関係がある。 オホーツク海南部水域＜同中部水域≒ベーリング海南部水域≒同中部水域＜同北部水域。

更にオホーツク海とベーリング海とに分けて比較すると，前者では平均 68.33±1.67 個 (64～73 個，186 個体)，後者では平均 68.94±1.99 個 (64～74 個，285 個体) で両海域の間には有意の差があり，脊椎骨数に関して， オホーツク海＜ベーリング海 の関係がある。然しこれは後者では脊椎骨数の多い北部水域の標本が混じ，前者では脊椎骨数の少い南部水域の標本が混ずるためで，オホーツク海北部水域の標本を欠く現在，一概に オホーツク海＜ベーリング海 と結論することは出来ない。

オホーツク海及びベーリング海から，稚魚ネット表層曳に依つて採集されたキタイカナゴ幼稚魚の脊椎骨数の変異に就いて，合計 471 個体の標本に就いて計測考察した結果，下の様な関係が知られた。

オホーツク海 南部水域 (45°～50°N) 67.61±1.47 ＜ オホーツク海 中部水域 (50°～55°N) 68.61±1.62 ≒ ベーリング海 南部水域 (50°～55°N) 68.58±1.71

≒ ベーリング海 中部水域 (55°～60°N) 68.23±1.91 ＜ ベーリング海 北部水域 (60°～65°N) 70.04±2.21

即ち南から北え緯度の変化に伴つて脊椎骨数が増加する。同様の事実はイカナゴ *A. personatus* においては屡々報告されている [内橋・井上・中村 ('50), Hatanaka & Okamoto ('50), 石垣・加賀 ('57)]。

尚オホーツク海南部水域中で採集されたイカナゴに概当すると思われる標本は 74 個体で，その脊

椎骨数は平均 64.60±0.10 個 (61～68 個, 64 個体) である。石垣・加賀 ('57) によれば北海道オホーツク海沿岸におけるイカナゴの脊椎骨数は平均 64.64±1.39 個 (62～68 個, 183 個体) で, 上記の数値とよく一致している。

幼稚魚の体長組成

採集標本 1671 個体中破損した標本を除き, 測定可能な 1473 個体の水域別, 月別体長組成 (全長を以て示す) を第 3 表に示した。

先づオホーツク海とベーリング海に分けて考察する。6 月分はオホーツク海の標本数僅少のためこれを省き, 7 月分オホーツク海の平均 30.35±6.45 mm (211 個体), ベーリング海の平均 28.85±8.65 mm (853 個体) で両者の間に有意差なく, 8 月分もオホーツク海の平均 44.05±7.60 mm (76 個体), ベーリング海の平均 42.55±9.52 mm (72 個体) で両者の間に有意差がない。又 6. 7. 8 月の 3 ケ月分についてもオホーツク海の平均 32.00±9.20 mm (299 個体). ベーリング海の平均 31.10±8.15 mm (1174 個体) で両者の間には有意差は認められない。

然し両海域共に緯度差別に考察すると, 全長組成に顕著な差異が見出される。6 月分はオホーツク海, ベーリング海共に採集標本がその南部水域に限られ (且つ前者に於ける標本数が特に少く), 比較資料に供し難いのでこれを省く。7 月分はオホーツク海南部水域 (45°～50°N) と中部水域 (50°～55°N) を比較すると, 前者では平均 33.50±6.05 mm (138 個体), 後者では 26.00±5.15 mm (70 個体) で, 両者の間には有意差が認められ, 南部水域＞中部水域 なる関係にある。同月のベーリング海南部水域 (50°～55°N) と中部水域 (55°～60°N) を比較すると, 前者では平均 41.13±6.65 mm (163 個体), 後者では平均 26.00±6.25 mm (690 個体) で, 両者の間には有意差が認められ, 同様に 南部水域＞中部水域 なる関係がある。即ち両海域共に 南部水域＞中部水域 である。8 月のオホーツク海の標本は殆んど中部水域のみで, ベーリング海も標本数において充分でないが, 南部水域 (50°～55°N) 48.90±6.25 mm (48 個体), 中部水域は標本を欠き, 北部水域 (60°～65°N) 29.65±2.75 mm (24 個体) で, 南北両水域間には有意の差が認められ, 南部水域＞北部水域 なる関係がある。

次に両海域間の関係を知るために同緯度間 (50°～55°N) にあるオホーツク海中部水域とベーリング海南部水域を比較すると, 7 月分では前者平均 26.00±5.15 mm (70 個体), 後者平均 41.13±6.65 mm (163 個体) で両者の間には有意の差が認められ, オホーツク海中部水域＜ベーリング海南部水域 である。又 8 月分ではオホーツク海中部水域平均 44.65±7.20 mm (69 個体), ベーリング海南部水域平均 48.90±6.25 mm (48 個体) で, 両者の間には有意の差が認められ, 7 月と同様に オホーツク海中部水域＜ベーリング海南部水域 である. 即ち同緯度間 (50°～55°N) にある両海域の間にはオホーツク海＜ベーリング海 なる関係があるが, 各海域全体として見た時, オホーツク海ではその南部水域の比較的大きな全長組成がこれに加わり, ベーリング海では北部水域の比較的小さな全長組成が加わつて, 既に述べた オホーツク海≒ベーリング海 の関係が現われる。

尚時期の推移に伴う全長の変化を見るとオホーツク海水域において, 6 月は標本数が少いのでこれを除き, 7 月平均 30.35±6.45 mm (211 個体), 8 月平均 44.05±7.60 mm (76 個体) で, 時期の推移に伴う成長が現われて居る。

ベーリング海水域に於いては, 6月平均 35.40±5.55 mm (249 個体), 7 月平均 28.85±8.65 mm (853 個体), 又 8 月平均 42.55±9.50 mm (72 個体) で, 6 月と 7 月の間に時期の推移に反し成長に逆の関係が示めされた。然しこれは 6 月の資料が全長組成の大きい南部水域の標本のみであることから生じた結果である。

Table 3 (a). Frequency distribution of the total length of the sand-lance, *Ammodytes hexapterus* PALLAS

Range (mm)	Okhotsk Sea (Number)												
	June				July				August				Total
	45°～50°N	50°～55°N	55°～60°N	Total	45°～50°N	50°～55°N	55°～60°N	Total	45°～50°N	50°～55°N	55°～60°N	Total	
11～15	1			1	1	1		2					3
16～20	5			5	2	11		13			2	2	20
21～25	1			1	11	12	1	24			0	0	25
26～30	0			0	36	38	2	76			0	0	76
31～35	2			2	44	7		51		7	2	9	62
36～40	2			2	30	1		31		10	0	10	43
41～45	1			1	13			13		14	0	14	28
46～50					1			1	1	28	1	30	31
51～55									1	8		9	9
56～60										2		2	2
61～65													
Total (n)	12			12	138	70	3	211	2	69	5	76	299
Mean value (M)					33.50	26.00		30.35		44.65		44.05	32.00
Standard deviation (σ)					6.05	5.15		6.45		7.20		7.60	9.20
Sampling error $\left(m=\frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right)$					0.51	0.61		0.44		0.86		0.87	0.53

Table 3 (b). Frequency distribution of the total length of the sand-lance, *Ammodytes hexapterus* PALLAS

Range (mm)	Bering Sea (Number)												Total
	June				July				August				
	50°～55°N	55°～60°N	60°～65°N	Total	50°～55°N	55°～60°N	60°～65°N	Total	50°～55°N	55°～60°N	60°～65°N	Total	
11～15	1			1	2	17		19					20
16～20	0			0	1	142		143					143
21～25	5			5	2	152		154			1	1	160
26～30	43			43	6	231		237			14	14	294
31～35	73			73	14	96		110			9	9	192
36～40	84			84	32	47		79	1			1	164
41～45	36			36	71	5		76	17			17	129
46～50	7			7	32			32	13			13	52
51～55					3			3	9			9	12
56～60									5			5	5
61～65									3			3	3
Total (n)	249			249	163	690		853	48		24	72	1174
Mean value (M)	35.40			35.40	41.13	26.00		28.85	48.90		29.65	42.55	31.10
Standard deviation (σ)	5.55			5.55	6.65	6.25		8.65	6.25		2.75	9.50	8.15
Sampling error $\left(m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}\right)$	0.35			0.35	0.52	0.23		0.29	0.99		0.55	1.12	0.23

オホーツク海及びベーリング海から主として 6~8 月の間に稚魚ネット表層曳に依つて採集されたキタイカナゴ幼稚魚合計 1473 個体の体長組成 (全長を以て示す) に就いて測定考察した結果, 下記の関係がわかつた。

オホーツク海......南部水域 (45°~50°N)>中部水域 (50°~55°N)

ベーリング海......南部水域 (50°~55°N)>中部水域 (55°~60°N)>北部水域 (60°~65°N)

同緯度間両海域......オホーツク海 (50°~55°N)<ベーリング海 (50°~55°N)

然しこれらの標本は数年に亘つて, 両海域内の多数地点で採集されたものであること, 又殆んど総てが稚魚ネット表層曳に依つて採集されたもので, 従つて魚体の成長に伴う逃避能力, 棲息水域の変化等により, ここに得られた結果が果して同海域における同時期の幼稚魚母集団の成長度を代表しているかどうか尚疑問の余地がある。然し仮にこの結論に誤りがないとすれば, これら体長組成の変異は, オホーツク海及びベーリング海における, 又各海域の南北水域における海洋条件等の差異に起因する発生時期或は生活環境の差異等に依ることが考えられる。

尚オホーツク海南部水域で採集されたイカナゴに概当すると思われる標本の体長組成は平均 26.74 ±1.09 mm (71 個体) で, 同水域のキタイカナゴの体長組成より小さい。

文 献

Andriashev, A. P. (1954). *The fishes of northern seas of the Soviet Union.* 566 p. Moscow, Acad, Sci. USSR. (in Russian).

Hatanaka, M. & Okamoto, R. (1950). Studies on populations of the Japanese sand lance (*Ammodytes personatus* GIRARD). *Tohoku Jour. Agri. Res.* 1 (1), 57-67.

石垣富夫・加賀吉栄 (1957). 北海道周辺におけるイカナゴ (*Ammodytes personatus* GIRARD) の漁業生物学的研究 -I- 特に Population の構造について. 北水研研究報告 (16), 13-38.

Jordan, D. S. (1906). A review of the sand lances or Ammodytidae of the waters of Japan. *Proc. U. S. Nat. Mus.* 30 (1464), 715-719.

川村輝良 (1940). *Ammodytes personatus* GIRARD (玉筋魚) の脊椎骨数に於ける地方的差違. 水産学雑誌 (46), 80-83.

Kazanowa, I. I. (1959). Materials on the reproduction and development of some species of fishes at waters of the South Sakhalin and South Kuril Islands. Investigations of the waters of Far East, USSR. VI. *Studies on the Kuril-Sakhalin Expedition* 2, 132-140. (in Russian).

Lindberg, G. U. (1937). On the classification and distribution of sand-lances genus *Ammodytes* (Pisces). *Bull. Far. Eastern Branch Acad. Sci. USSR* (27), 85-93.

松原喜代松 (1955). 魚類の形態と検索 I—III. 1605 p. 135 pls. 東京; 石崎書店.

内橋 潔・井上喜平治・中村美智子 (1950). 日本産イカナゴ (*Ammodytes personatus* GIRARD) の脊椎骨数の変異. 兵庫県水試報告 (6), 29-31.

北海道函館附近に於けるメジナ *GIRELLA PUNCTATA* GRAY の幼稚魚に就いて

小林喜雄・五十嵐　傑
(北海道大学水産学部水産動物学教室)

Larvae and young of *Girella punctata* GRAY from Hakodate Bay in southern Hokkaido

Kiyu KOBAYASHI and Masaru IGARASHI

Abstract

Sixty-five larvae and young of *Girella punctata* GRAY measuring 10.2～102.5 mm in total length were collected in Hakodate Bay during the period from the begining of July to the end of December each year in the years 1955-1960. Observation on these samples revealed the following facts.

Head length and the diameter of eye are relatively large compared to the body length in the smaller samples. The proportions decrease gradually with the growth of body, until they attain to the rate in adult form in the largest sample of 102.5 mm total length.

The depth of body is small and 1/3.46 compared to body length in the smallest sample. It increases gradually with the growth of the body. The rate in adult form is attained in a sample of about 50 mm total length.

The anus is situated slightly posterior to the middle of the body in all samples.

Fins are not yet completed in a sample of 10.2 mm total length. Fin rays attain to their full number in the specimen of 15.9 mm total length.

Scales appear first on both sides of the body in a specimen of 15.9 mm total length, each scale having 4 to 7 ridges and 1 to 5 spinous teeth. Smaller scales on the cheek and belly appear on a sample of 27.9 mm total length. Similar scales develop gradually on the fins with the growth of the body. In the largest specimen of 102.5 mm total length, about 1/3 parts near the base of dorsal, anal and caudal fins are covered with these scales, and each scale on both sides of body has 100 to 125 ridges and 99 to 172 spinous teeth.

Gill rakers on the first gill arch numbered 8+16 in a sample of 15.9 mm total length, not being the full number in adult. The development of gill rakers is slower than that of other parts of the body. In the largest specimen of 102.5 mm total length, gill rakers attain to their full number, of 13+26.

Vertebrae in 16 specimens were counted as 11+15=26 by the radiograph.

There is a blackish thick stripe on the lateral sides of the body in the stages from 16.5 to 27.9 mm total length, which is a remarkable character in these stages. Body becomes colored dark blue black with its growth showing the color of the adult in a sample of about 30 mm total length. All fins except the pectoral fins are colored the same as body in a specimen of 52.7 mm total length.

従来北海道沿岸水域からメジナ科 Girellidae に属する種類の報告された例は少く，僅かにメジナ *Girella punctata* GRAY が北日本水域に迄分布する事が知られて居るにすぎない。

筆者等の一人は先に，本種の幼稚魚が 7 月から 12 月頃にかけて，北海道南部函館附近の茂辺地平磯周辺に現われる事を報告し［小林・遊佐・高杉 ('58)]，其の後石狩川口附近の汐目から全長 20.0 mm の 1 個体を得て其の形態の概要を報告した［小林 ('60)]。

本種の卵発生及び仔魚期の形態に就いては水戸 ('57) の研究報告があり，中村 ('34) が全長 11.4 mm の本種の稚魚に就いて報告している。 然し内田・他八名 ('58) がその報告中でクロメジナ *G. melanichthys* (RICHARDSON) 及びオキナメジナ *G. mezina* JORDAN & STARKS の幼稚魚との相違を疑問のまま報告して居る様に，メジナ属の幼稚魚期に於ける形態には未だ十分に明らかにされていない点が多い。

筆者等は 1955 年から 1960 年の 7～12 月の間に，北海道上磯町七重浜地先第 3 堤防及び上磯町茂辺地平磯周辺の水域で採集された 65 個体の標本に基いて，其の成長に伴う外部形態の変化を明らかにする事が出来たので此処に記述する。

本研究遂行に当り，終始御指導を賜わつた故佐藤信一教授並びに御指導と御校閲の労を賜わつた北海道大学水産学部教授岡田儁博士に深甚なる謝意を捧げる。尚本研究資料の一部の提供を受けた本学部助教授久保達郎氏，並びに採集に御協力を得た目片徳治，石若猛及び佐藤茂亘の各氏に感謝する。

仔 稚 魚 の 形 態

全長 10.2～102.5 mm に亘る 65 個体の標本中 17 個体の魚体各部の測定結果は第 1 表に示す如くである。その中特に各成長段階を示す代表的 7 個体の形態に就いて以下に記述する。

標本番号 L-2203, a. 全長 10.2 mm (Plate I, A)

体長 9.0 mm，頭長は体長の 2.73 分の 1；体高は 3.46 分の 1；吻端から肛門迄の距離は 2.00 分の 1。眼径は頭長の 2.75 分の 1。

鰭の発達は不完全で，鰭条は背鰭で 25 条，臀鰭で 14 条，胸鰭で 13 条，腹鰭で 4 条が数えられるが何れも定数に達しない。背鰭の第 1～9 条は低く，鰭条長は第 10～24 条の鰭条長の約 2 分の 1 である。

体はやや透明で，筋節数は 25 が数えられる。鱗及び側線は認められない。

黒色素は頭部に稍々多く，臀鰭及び尾鰭の基底，体側正中線及び腹部にも僅かに見られる。尚腹腔部が黒く認められる。

標本番号 L-2204, f. 全長 16.5 mm (Plate I, B)

D. XV, 13; A. III, 13; P. 21; V. I, 5

体長は 13.3 mm，頭長は体長の 2.83 分の 1；体高は 3.33 分の 1；吻端より肛門迄の距離は 1.82 分の 1。眼径は頭長の 2.76 分の 1。

鰭は何れも完成し，鰭条はそれぞれ定数に達する。軟条はその先端が 2 本に分枝し，関節が明らかに認められる。背鰭棘条部は軟条部より低い。尾鰭後縁は僅かに凹む。

鱗は体側に沿つて認められ，特に中央部に良く発達し，側線は鰓蓋骨上方から背鰭中央部附近迄認められる。鰓耙数は 8+16。

体は黒色で，頭部及び背鰭，臀鰭の基底は濃い。又肛門上方から尾柄部に至る体側正中線に沿つて太い黒色縦縞がある。又背鰭及び尾鰭の鰭膜上に黒色素が認められる。

標本番号 L-2205, b. 全長 23.2 mm (Plate I, C)

Table 1-1. Measurements and counts of the larvae and young of *Girella punctata* GRAY

Specimen No. (L)	2203, a	2204, b	2204, f	2205, b	1905, b	1905, a	1904, f	1904, c	1903, b
Date	1960, 7, 6	1955, 7, 15	1955, 7, 15	1960, 7, 23	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1960, 9, 8
Total length (mm)	10.2	15.9	16.5	23.2	26.2	27.9	32.3	32.7	34.1
Body length (mm)	9.0	13.4	13.3	18.7	21.2	22.5	26.6	27.0	27.7
Head length in B. L.	2.73	2.77	2.83	2.79	2.75	2.85	2.89	2.84	2.80
Depth of body in B. L.	3.46	3.35	3.33	3.22	3.16	3.04	2.83	2.65	2.80
Distance from tip of snout to anus in B. L.	2.00	1.76	1.82	1.73	1.51	1.65	1.63	1.72	1.61
Diameter of orbit in H. L.	2.75	2.82	2.76	3.19	2.96	2.72	2.79	2.64	2.75
Number of D.	(25)	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13
Number of A.	(14)	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13
Number of P.	(13)	21	21	21	21	21	21	21	21
Number of V.	(4)	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5
Number of gill rakers		8+16			12+20	11+20	12+21	12+22	14+22
Number of scales in L. L.				52	52	52	52	53	51
Number of transverse scales				8+15	8+14	8+14	8+14	8+15	8+15
Number of vertebrae				11+15	11+15	11+15		11+15	
Length of scale		0.12~0.18		0.12~0.27	0.22~0.35			0.26~0.40	0.29~0.38
Number of spinous teeth		1~5		5~ 9	7~14			12~17	14~20
Number of ridge		4~7		9~13	17~22			18~26	22~31

Table 1-2. Measurements and counts of the larvae and young of *Girella punctata* GRAY

Specimen No. (L)	1903, c	1902, a	1901, b	1900, b	1900, a	1899, b	677, d	2207, a
Date	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1960, 9, 8	1957, 10, 24	1957, 12, 26
Total length (mm)	34.4	41.8	43.8	49.7	52.7	64.8	75.0	102.5
Body length (mm)	28.3	34.2	35.6	40.9	42.8	52.4	60.9	85.0
Head length in B. L.	2.89	2.87	2.83	3.01	3.08	3.23	3.17	3.48
Depth of body in B. L.	2.72	2.63	2.64	2.49	2.45	2.52	2.44	2.46
Distance from tip of snout to anus in B. L.	1.68	1.68	1.65	1.73	1.71	1.75	1.71	1.82
Diameter of orbit in H. L.	2.65	2.90	2.93	2.98	3.16	3.12	3.10	3.64
Number of D.	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13	XV, 13
Number of A.	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13	III, 13
Number of P.	21	21	21	21	21	21	21	21
Number of V.	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5	I, 5
Number of gill rakers	12+23	13+21	13+23	13+24	13+22	13+23	14+24	13+26
Number of scales in L. L.	52	54	53	53	52	57	50	58
Number of transverse scales	8+14	9+17	9+17	9+17	9+18	9+17	9+17	10+18
Number of vertebrae	11+15	11+15				11+15		11+15
Length of scale		0.33~0.45	0.38~0.47	0.40~0.81		0.59~0.92	0.84~1.09	1.45~1.61
Number of spinous teeth		17~23	21~32	25~37		46~77	69~120	99~172
Number of ridge		25~36	30~39	35~55		55~66	64~79	100~125

D. XV, 13;　A. III, 13;　P. 21;　V. I, 5

体長は 18.7 mm，頭長は体長の 2.79 分の 1; 体高は 3.22 分の 1; 吻端より肛門迄の距離は 1.73 分の 1。眼径は頭長の 3.19 分の 1。

各鰭の軟条の分枝は明瞭で，鱗は体側全体に亘つて発達し，鱗長 0.12~0.27 mm で，成長帯数 9~13 本，隆起線数は 5~9 本と数えられる。側線は臀鰭中央部附近迄に認められ，有孔鱗数 52，横列鱗数 8+15。脊椎骨数は X-ray に依り観察した結果 11+15=26 (尾下骨を除く) である。

体は黒色が濃く，体側正中線に沿う黒い縦帯は顕著である。背鰭及び尾鰭には黒色素が多く，胸鰭及び腹鰭にも点在するが，臀鰭では棘条部に僅かに見られるが軟条部では殆んど無い。

標本番号 L-1905, a.　全長 27.9 mm　(Plate I, D)

D. XV, 13;　A. III, 13;　P. 21;　V. I, 5

体長は 22.5 mm，頭長は体長の 2.85 分の 1; 体高は 3.04 分の 1; 吻端より肛門迄の距離は 1.65 分の 1。眼径は頭長の 2.72 分の 1。

各鰭は何れも完成する。鱗は峡部から尾柄部に亘り発達し，背側及び腹側，特に背鰭，臀鰭及び尾鰭の鰭基部に小形の鱗が現われる。又頭部にも鱗の出現を認めるに至る。側線は尾柄前部迄発達し，有孔鱗数 52，横列鱗数 8+14。鰓耙数は 11+20。

体は淡黒色で，背側では濃く，胸部，喉部及び腹部では淡い。体側正中線の黒い縦縞は不明瞭で，黒色素の一列の点として認められる。背鰭では黒色素が棘条部全体に亘つて分布し，軟条部では基底より凡そ 3 分の 2 の鰭膜を覆う。尾鰭及び胸鰭では鰭条に沿つて先端迄分布する。又腹鰭では基部より約 3 分の 1 の鰭膜上に黒色素が分布する。

標本番号 L-1904, f.　全長 32.3 mm　(Plate II, A)

D. XV, 13;　A. III, 13;　P. 21;　V. I, 5

体長は 26.6 mm，頭長は体長の 2.89 分の 1; 体高は 2.83 分の 1; 吻端より肛門迄の距離は 1.63 分の 1。眼径は頭長の 2.79 分の 1。

鰭は何れも良く発達し，軟条は何れも其の先端は 2 本に分枝し，関節が明瞭に認められる。鱗は背鰭及び臀鰭基底部にある小形の鱗が基底部に亘り一様に分布し，頭部の鱗は良く発達する。側線は尾柄部に達し，有孔鱗数 52，横列鱗数 8+14。鰓耙数は 12+21。

体色は蒼黒色で，僅かに喉部及び腹部では淡い。背鰭及び臀鰭も縁辺部を除いて体色と同じく蒼黒色で，腹鰭では基部から約 3 分の 1 が黒いが，尾鰭及び胸鰭では鰭条に沿つて僅かに黒色素が分布するが鰭膜は無色である。

標本番号 L-1900, a.　全長 52.7 mm　(Plate II, B)

D. XV, 13;　A. III, 13;　P. 21;　V. I, 5

体長は 42.8 mm，頭長は体長の 3.08 分の 1; 体高は 2.46 分の 1; 吻端より肛門迄の距離は 1.71 分の 1。眼径は頭長の 3.10 分の 1。

体は殆んど完成し，体高はほぼ成魚のそれに達し卵円型となる。鰭は良く発達し，軟条は何れもその先端が凡そ 4 本に分枝する。頭部の鱗，特に主鰓蓋上に鱗が見られる。全鱗は殆んど完成し，有孔鱗数は 52，横列鱗数 9+18。鰓耙数は 13+22。

体は蒼黒色で，背側では特に濃く，腹部及び胸部では淡い。

標本番号 L-2207, a.　全長 102.5 mm　(Plate II, C)

D. XV, 13;　A. III, 13;　P. 21;　V. I, 5

体長 85.0 mm，頭長は体長の 3.48 分の 1; 体高は 2.46 分の 1; 吻端より肛門迄の距離は 1.82

分の 1。眼径は頭長の 3.64 分の 1。

体は完成し，体高も高くほぼ卵円型となる。鼻孔は前部の鼻管が樹枝状に発達する。各鰭の軟条は分枝が顕著で，その先端は数本に分枝する。又関節が明瞭に認められる。鱗は鱗長 1.45～1.61 mm で，成長帯数 100～125 本，櫛棘数 99～172 本が数えられる (Plate III, D)。小形の鱗が背鰭，臀鰭及び尾鰭の基部からほぼその 3 分の 1 を覆う。又頬部及び後頭部に微小鱗が認められる。側線有孔鱗数 58，横列鱗数 10+18。鰓耙数は 13+26 で成魚の定数に達する。脊椎骨数は X-ray に依り観察した結果 11+15=26 (尾下骨を除く) である。

体色は蒼黒色で，胸部及び腹部では僅かに淡く，胸鰭を除く各鰭は何れも体色と同じく蒼黒色を呈するが，胸鰭は淡色である。

1955～1960 年の 7 月上旬から 12 月下旬に亘る間，函館附近特に茂辺地平磯周辺及び七重浜第 3 堤防周辺に於いて採集したメジナ *Girella punctata* GRAY の全長 10.2～102.5 mm に亘る幼稚魚 65 個体の標本に基いて，成長に伴う外部形態の変化に就いて観察し次の諸点を明らかにする事が出来た。

(1) 頭長は全長 10.2 mm (最小個体) において体長の 2.73 分の 1 で其の割合は大きい。成長に伴つて其の割合は次第に小さくなり，全長 102.5 mm のものでは体長の 3.48 分の 1 となり，殆んど成魚のそれに等しくなる。

(2) 眼径は全長 10.2 mm の個体において頭長の 2.75 分の 1 で大きく，成長に伴つて其の割合は小さくなり，全長 102.5 mm のもので 3.64 分の 1 となり，成魚のそれに達する。

(3) 体高は全長 10.2 mm の個体において体長の 3.46 分の 1 で低く，成長に伴つて体高は高くなり，全長 50 mm 前後で約 2.5 分の 1 となつて成魚のそれに等しく，体はほぼ卵円型となる。

(4) 全長 10.2～102.5 mm の標本を通じて，吻端より肛門迄の距離は体長の 1.51～2.00 分の 1 で，特にこの全長範囲では成長に伴う肛門の位置の変化は認められない。

(5) 鰭は全長 10.2 mm の個体では未完成で，鰭条数も成魚の定数に達しないが，全長 16.5 mm の個体では棘条及び軟条の区別が明瞭で鰭条数は成魚の定数に達する。又軟条の関節も認められ先端が分枝し始める。

(6) 鱗は全長 15.9 mm で体側に初めて認められ，全長 27.9 mm で後頭部から尾鰭基部に亘つて分布し，頬部及び腹部にも微細な鱗が認められる。更に成長に伴つて鰭上にも発達し，全長 32.3 mm では僅かに背鰭，臀鰭及び尾鰭の基部附近に見られる程度であるが，全長 102.5 mm のものでは背鰭，臀鰭及び尾鰭の基底から約 3 分の 1 に微小鱗が分布する。側線及び横列鱗数は全長 40 mm 前後で完成し成魚の定数に達する。体側中央部の鱗の発達を見ると全長 15.9 mm のもので，鱗長 0.12～0.18 mm で，成長帯数 4～7 本，櫛棘数 1～5 本が数えられ，全長 102.5 mm のものでは鱗長 1.45～1.61 mm で，成長帯数 100～125 本，櫛棘数 99～172 本が数えられる (Plate III)。

(7) 鰓耙は全長 15.9 mm のもので 8+16 が数えられるが，発達状態は他の部位に較べ極めて遅い。全長 102.5 mm のもので 13+26 が数えられ成魚の定数に達する。

(8) 脊椎骨数は X-ray に依り 17 個体に就いて観察した結果，1 個体 (10+16=26) を除いて，11+15=26 個であつた。

(9) 体色は全長 10.2 mm では黒色素は少くやや透明に近いが，全長 16.5 mm で淡黒色となり特に体側，背鰭，臀鰭基底及び頭部に黒色素が多く，殊に全長 16.5～27.9 mm では体側正中線に沿つた黒色の太い縦縞があり，この成長段階における顕著な特徴を示す。以後成長に伴つて体は全体に蒼黒色となり，全長 30 mm 前後で成魚とほぼ同じ体色となり，全長 52.7 mm のものでは胸鰭を

除く各鰭は体と同じく蒼黒色となる。

文　　　献

Jordan, D. S. & Starks, E. C. (1907). List of fishes recorded from Okinawa or the Riu Kiu Islands of Japan. *Proc. U. S. Nat. Mus.* **32** (1541), 491-504.

——— — & Thompson, W. F. (1912). A review of the Sparidae and related families of perch-like fishes found in the waters of Japan. *Ibid.* **41** (1875), 521-601.

小林喜雄 (1960). 石狩川口附近の汐目に於ける幼稚魚. 北大水産彙報 **11** (3), 106-118.

　・遊佐多津雄・高杉新弥 (1958). 茂辺地平磯における幼稚魚について. 北水試月報 **15** (6), 257-264.

水戸　敏 (1957). メジナの卵発生と仔魚期. 魚雑 **6** (4/5/6), 105-108.

中村秀也 (1934). 小湊附近に現われる磯魚の幼期 (其五・六). 養殖会誌 **4** (7/8), 121-131.

内田恵太郎・他八名 (1958). 日本産魚類の稚魚期の研究 第1集. 89 p. 86 pls. 九大農学部水産第 2 [illegible].

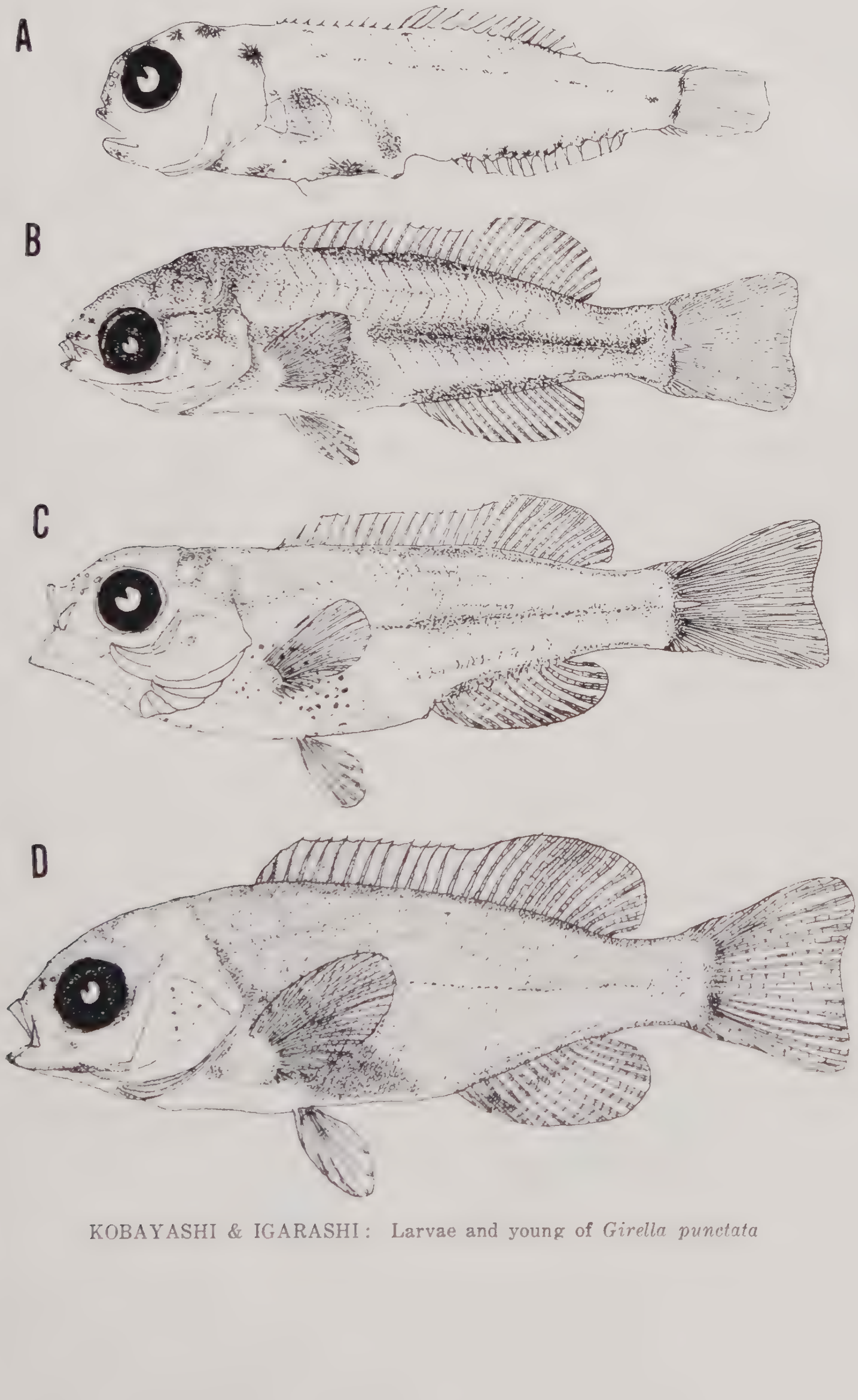
EXPLANATION OF PLATES

PLATE I

Larvae and young of *Girella punctata* GRAY

A : T. L. 10.2 mm (No. L-2203, a) B : T. L. 16.5 mm (No. L-2204, f)

C : T. L. 23.2 mm (No. L-2205, b) D : T. L. 27.9 mm (No. L-1905, a)



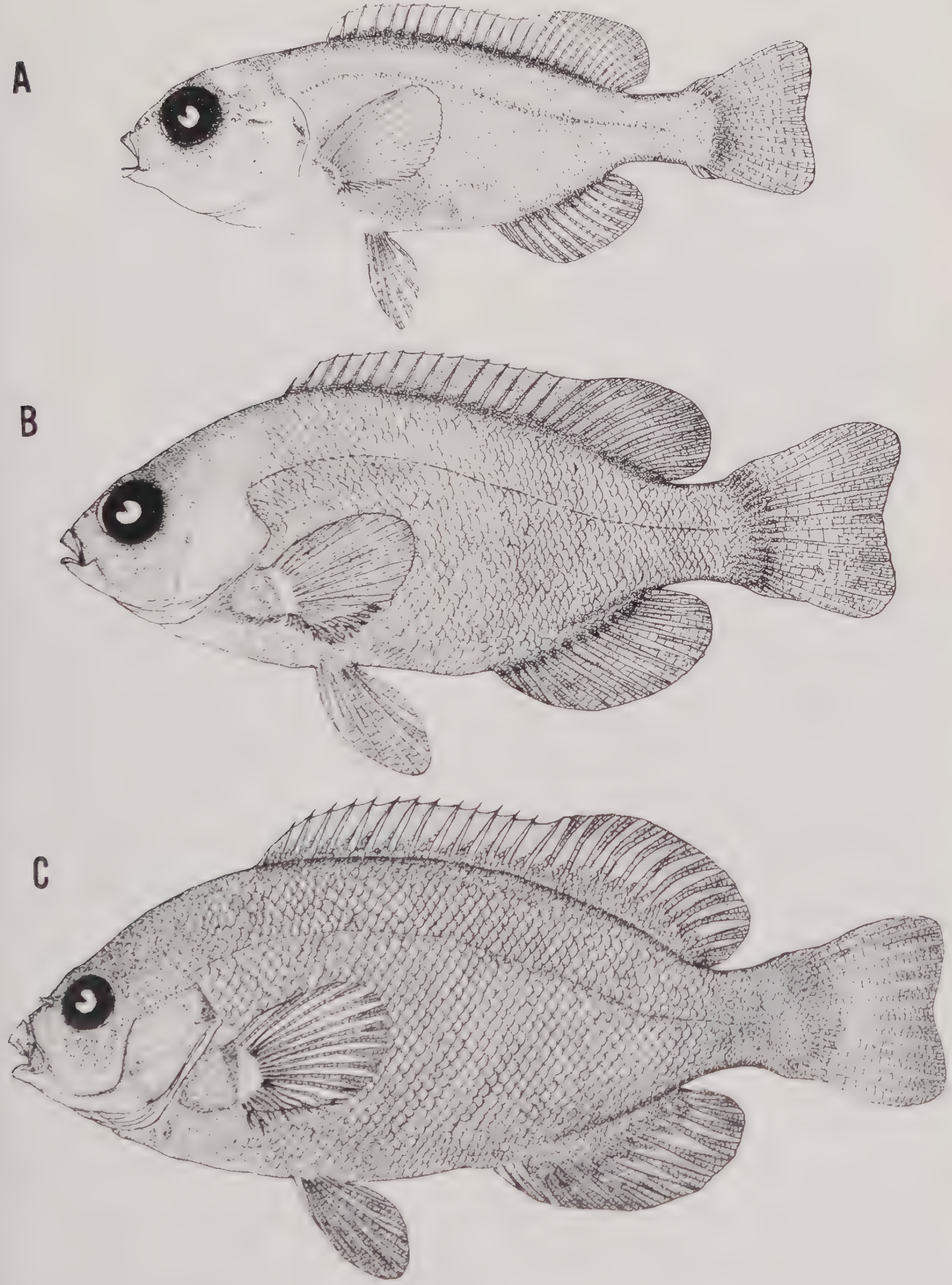
KOBAYASHI & IGARASHI: Larvae and young of *Girella punctata*

PLATE II

Larvae and young of *Girella punctata* GRAY

A : T. L. 32.3 mm (No. L–1904, f) B : T. L. 52.7 mm (No. L–1900, a)

C : T. L. 102.5 mm (No. L–2207, a)



KOBAYASHI & IGARASHI: Larvae and young of *Girella punctata*

PLATE III

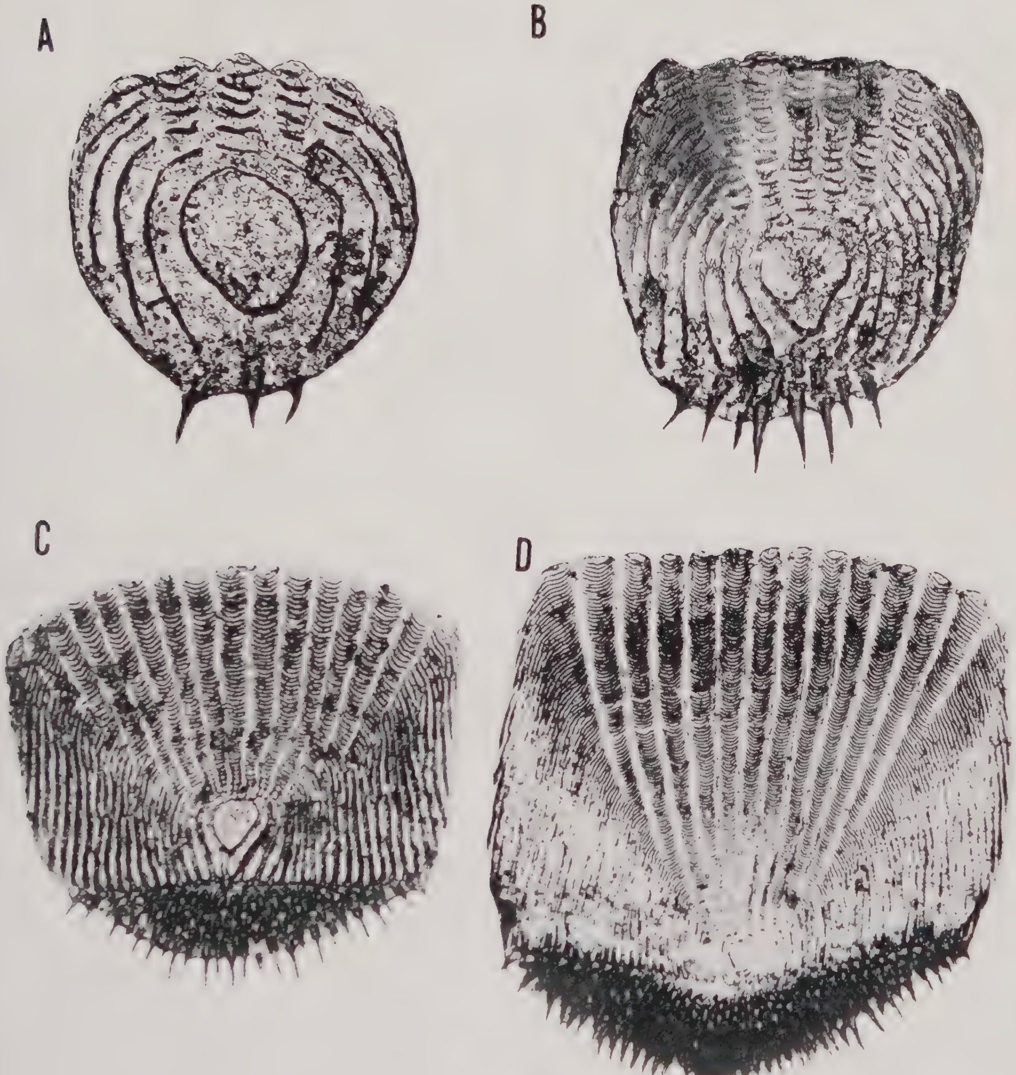
Scales on larvae and young of *Girella punctata* GRAY

A : Length of scale 0.15 mm (T. L. 15.9 mm)

B : Length of scale 0.27 mm (T. L. 26.2 mm)

C : Length of scale 0.55 mm (T. L. 49.7 mm)

D : Length of scale 1.52 mm (T. L. 102.5 mm)



KOBAYASHI & IGARASHI: Larvae and young of *Girella punctata*

1957年アリユウシヤン海域に於ける各種網目流網並に三枚網によるサケマス流網試験*

藤井武治・阿部茂夫・斎藤昭二・増田紀義・中根重勝
(北海道大学水産学部　おしよろ丸)

Exploratory Fishing of Salmon with Gill Nets of Various Mesh Sizes and with a Tramel Net in Aleutian Waters 1957

Takeji FUJII, Shigeo ABE, Shoji SAITO, Kiyoshi MASUDA and Shigekatsu NAKANE

Abstract

During the cruise of the training ship, "Oshoro Maru," to the Aleutian waters, exploratory fishings with salmon gill net and a trammel net were carried out at fourteen different localities in Aleutian waters during the periond from June 9 to July 15, 1957.

The gill nets used comprised those of six different mesh sizes viz., 2.5 Sun (75.8 mm), 3.0 Sun (90.9 mm), 3.5 Sun (106.0 mm), 4.0 Sun (121.2 mm), 4.2 Sun (127.2 mm) and 4.5 Sun (136.3 mm) in stretch mesh size. Full data are given in *Data Rec. Oceanogr. Expl. Fish* (*Hokkaido Univ.*) No. 2, 1958.

Percentage of total catch of three species of salmon caught by fourteen gill-net sets, exclusive of catch with the trammel net, was as follows.

Chum salmon	26%
Sockeye Salmon	8%
Pink salmon	65%

The largest catch of pink salmon was obtained with the net of 3.5 Sun, stretch mesh (44%) and 3.0 Sun stretch mesh (32%). Catches of chum salmon with 3.0 Sun, 3.5 Sun and 4.0 Sun were similar (15%). Catches of sockeye salmon with 3.0 Sun and 3.5 Sun were similar (21%), followed by the catches with 4.0 Sund and 2.5 Sun (18%).

The length (fork length) of pink salmon which were most abundant was 40-50 cm throughout the six mesh sizes. In chum salmon the fish most efficiently caught with 2.5 Sun mesh were 30-35 cm long and 2 years old. The fish caught most largely with 3.0 Sun, 3.5 Sun and 4.0 Sun were 45-50 cm long and 3 years old. The fish caught with 4.2 Sun were 50 55 cm long 4 years old. The fish caught with 4.5 Sun were 55 66 cm long and mostly 4 and 5 years old. In sockye salmon the fish caught with 2.5 Sun were 35 40 cm long and 4 years old, the fish caught with 3.0 Sun and 3.5 Sun were 45 50 cm long and 5 years old, the fish caught with 4.0 Sun were 50-55 cm long and 5 or 6 years old, and the fish caught with 4.2 Sun and 4.5 Sun were 55-60 cm long and mostly 6 years old.

* 北海道大学練習船調査報告　No. 26

Comparing the catch per unit area of the trammel net to that by sum total of catch per unit area of 6 mesh size nets of ordinary gill nets, it was found that the former catch was not necessarily larger than the latter. This means that the trammel net could not effectively catch every size of salmon inhabiting the water. When the fish shoal became more dense, the catch rate of trammel net decreased more. (Table 4)

The following conclusions were reached as a result of the exploratory fishings carried out in the area outside the commercial fishing grunds.

To the south of the eastern Aleutians (F-9) where the temperature of sea surface was relatively high (8°C). chum salmon of 3 years old were caught. In the cold water region adjacent to the Aleutians, (F-10) large sized sockeye and chum salmon were abundantly caught. On the contrary, pink salmon were rare.

To the southwest of Attu Islands, (F-5, F-13) the body length of chum salmon did not apparently differ from that of fish caught three weeks before at the same locality. However the number of large sized sockeye and chum salmon decreased in comparison with those of 3 weeks before; the males dominated before, while the females became dominant in the three weeks later net set; and half of fish were immature before, while nearly all fish were matured three weeks later.

I 緒　　言

1957 年 6~7 月に行われた練習船おしよろ丸の北洋航海の際，網目の異なる 2.5 寸目から 4.5 寸目に至る 6 種の流網と，且つ同時にサケマス用に試作した三枚網を使つて，サケマス漁獲試験を 14 回実施した。本調査の目的は各種網目による流網の漁獲効率を比較し，且つ三枚網のサケマスに対する漁獲を確めるにあつた。試験回数は少ないが 6 種の目合別漁獲試験の結果は参考になると思われるので報告することとした。更にサケマス船団の操業区域を越えた広範囲に及ぶサケマスの沖合分布に関する知見を加えることも一つの目的であつた。

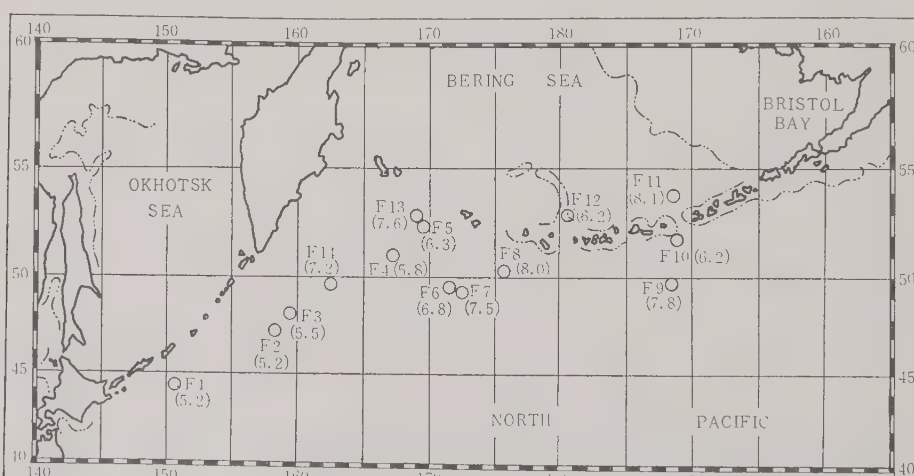


Fig. 1. Location of salmon gill net set on 1957 cruise of the "Oshoro Maru"
( ).... Surface temp. (C)

本調査は水産庁の援助を得て実施され，且海上作業に当つては，小藤英俊助教授外調査員諸氏，おしよろ丸実習学生並びに乗組員より多大の援助をうけた。亦本調査に関し元田茂教授，久保達郎助教授から親切な助言を与えられた。之等の援助に対し深く謝意を表すものである。

II　漁獲試験の位置及び時期

6 月 9 日より 7 月 15 日までの期間に北太平洋及びベーリング海南部海域に於て 14 回の流網漁獲試験を行つた。試験位置並びに試験当時の表面水温を第 1 図に示した。詳細な記録は調査要報（北大水産 1958）に載せてある。

III　使用漁具及び試験方法

漁具はアミラン製薄墨色（但し 4.2 寸目は淡茶色）流網で，網目は 2.5 寸，3.0 寸，3.5 寸，4.0 寸，4.2 寸，4.5 寸目及び三枚網の 7 種を使用し，その主要寸法は第 1 表の通りである。

Table 1.　Main measurements of salmon gill net and trammel net

		Mesh size Sun (mm)	Number of mesh	Stretch length Ken (m)	Length of making Ken (m)	Depth of making Ken (m)
Ordinaly gill net		2.5 (75.8)	93	50 (75.7)	32.3 (49)	3.4 (5.2)
		3.0 (90.9)	80	50 (75.7)	32.3 (49)	3.6 (5.4)
		3.5 (106.0)	67	50 (75.7)	32.3 (49)	3.5 (5.3)
		4.0 (121.2)	58	50 (75.7)	32.3 (49)	3.4 (5.2)
		4.2 (127.2)	60	60 (90.0)	34.9 (53)	3.8 (5.7)
		4.5 (136.3)	52	50 (75.7)	32.3 (49)	3.8 (5.7)
Trammel net	out	16.0 (484.8)	16	29 (43.9)	20.4 (31)	3.6 (5.4)
	in	2.5 (75.7)	93	50 (75.7)		

三枚網は 1 枚の中網，その両側に中網より網目の大きい外網 1 枚づつ合計 3 枚の網地を重ねてつくつてあり，中網は外網より背丈が高いので中網がたるんだ恰好になつて，底刺網として使用した場合に好成績を収めている。之は中網が底部近くでたるんで，外網を通過した魚がたるんでいる中網を押し，中網は反対側にある外網の網目の間を通つて袋状に押出され，その袋の中に魚が包まれるからである。サケマス流網として使用する場合には，海面に近い網の上部にたるみが少なくて，流網の上部に羅網の多いサケマスには効果が少ないと思われる。その為中網のたるみを下部のみにつくらないように，水平に中通し糸を 2 本使用して，中網のたるみを網の上，中，下部に配分し，三枚網としての構造上の特長を生かす様に試みた。網の使用糸は，中網アミラン 210 D 8 本撚り，外網アミラン 210 D 12 本撚りで夫々普通流網の網糸（210 D 16 本撚り）より細くした。尚当初から三枚網は羅網魚の網外し作業の困難が予想されたので各種網目の流網をつないだ外端に連結した。

使用反数は 1 試験点 58～75 反で各種網目の流網を次の如く連結した。

3.5 寸目×2 反～4.0 寸目×5 反～4.5 寸目×3 反～2.5寸目×1 反～3.0 寸目×2 反。

この配列を繰返し最後は

~4.0 寸目×4 反~4.5 寸目×3 反~2.5 寸目×1 反~3.0 寸目×1 反~三枚網×5 反~4.2 寸目×8 反。とした。

IV 試験結果及び考察

漁業試験記録の詳細は調査要報 (北大水産 1958, pp. 75~79) に発表済である。試験地点は第1図の如く毎回移動したから, 各点の海況は異なり, 捕獲魚の組成にも差違が見られたが, 今一括してこれを調らべ亦その中の数試験点について考察することにする。罹網率は網の長さ 100 m (65.8 間) 当りの値に換算した。この長さは独航船使用網 1 反の約 2 倍に当る。

漁獲された魚種は第 2 表 (三枚網を除く) の如く, マス 65%, シロ 26%, ベニは僅か 8% で, マスが圧倒的に多かつた。この現象の特徴はこの年はマスがアジヤ側の豊漁年といわれ, 資源量が非常に大きかつた事の外に, 調査の行われた時期にはベニ, シロの大部分は既にその海域を離れていたためと思われる。(母船式船団の漁獲率はベニ 42%, マス 35%, シロ 22%)[1)]。

1) 各種網目による魚種別罹網率

第 2 表の如く各魚種とも 4.2 寸目, 4.5 寸目の罹網率は網目の小さい網は較べて非常に低い。マスは 3.5 寸目が最も良く (44%), 3.0 寸目が之に次ぎ (32%), 4.0 寸目は 14% であつた。ベニは他の魚種に較べ捕獲数 (434 尾) が少なかつたが, 3.0 寸, 3.5 寸目が夫々良く (21%), 4.0 寸, 2.5 寸目が之に次ぐ (18%)。シロは 7 月中旬 (F 12 及び 14) 2.5 寸目で若年魚の濃群を捕獲したが (45%), 3.0 寸目, 4.0 寸目及び 3.5 寸目は大体同じ位 (14~15%) である。而して2年で成魚となるマスは別として, シロ及びベニでは各種網目の罹網分布も拡がつている。

Table 2. The rate of catch of salmon by various mesh size gill nets and trammel net; (net length per unit 100 meters)

Mesh size of net (sun)	Sockeye	Chum	Pink	Other	Total
2.5	1.10	7.81	2.13	0.03	11.06
3.0	1.27	2.74	14.00	0.00	18.08
3.5	1.30	2.34	19.23	0.04	22.67
4.0	1.11	2.53	6.32	0.12	9.66
4.2	0.74	0.94	0.94	0.00	2.59
4.5	0.55	0.96	0.86	0.12	2.46
Total	5.99	17.32	43.48	0.31	67.10
Trammel net	1.86	5.64	13.35	0.25	21.11

2) 各種網目の罹網魚の体長組成 (F. L.) 及び年令組成

全漁獲結果を一括して漁獲尾数を縦軸にとり体長を横軸にとつて, 魚種別に体長組成をヒストログラフに表わすと第2図の如くである。マスは 2.5 寸, 3.0 寸及び 3.5 寸目では 40~45 cm, 4.0 寸, 4.2 寸及び 4.5 寸目では 45~50 cm にモードがあり, ベニは 2.5 寸目では 35~40 cm, 3.0 寸, 3.5 寸目では 45~50 cm, 4.0 寸目では 50~55 cm, 4.2 寸, 4.5 寸目では 55~60 cm に, シロは 2.5 寸目では 30~35 cm, 3.0 寸, 3.5 寸及び 4.0 寸目では 45~50 cm, 4.2 寸目では 50~55 cm, 4.5 寸目では 50~60 cm に夫々モードがある。今各魚種について網目別の体長組成の峯に含まれる魚体の年令組成を見ると第 3 表の如くであり, マスは 2 年魚と認められているが, ベニは 2.5 寸目が

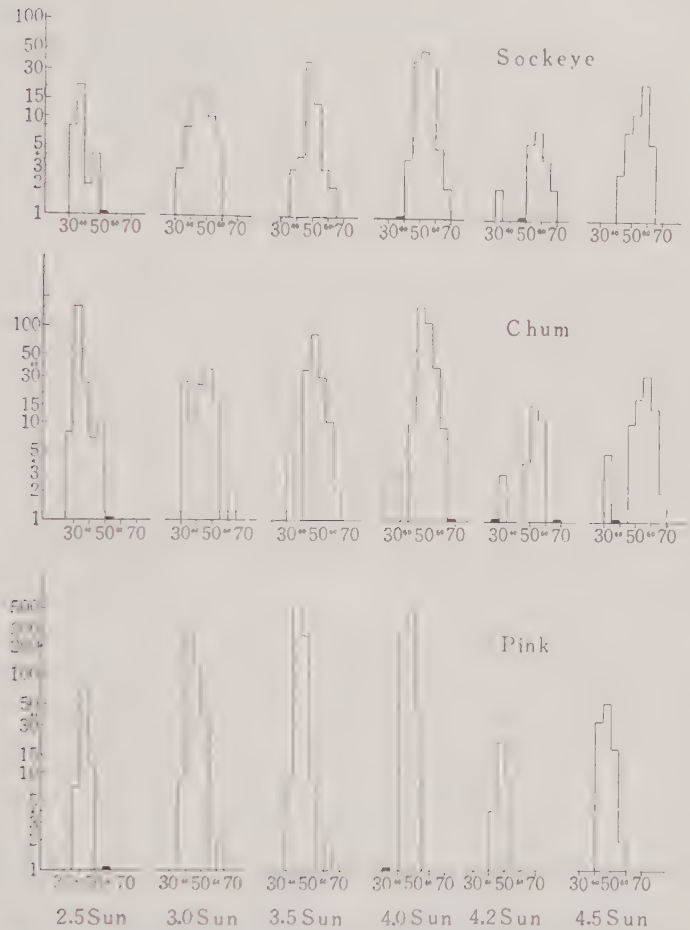


Fig. 2. Histogram of fork length on three species of salmon caught with six different mesh size nets

4 年魚，3.0 寸，3.5 寸目では 5 年魚が多く (66%)，4 年魚が 20%，6 年魚が 14% である。4.0 寸目では 5，6 年魚が殆んど (94%) であり，4 年魚は僅少 (3%)である。4.2 寸，4.5 寸目は 5，6 年魚であり商業用漁獲対象となるものは主として 5，6 年魚である。シロは 2.5 寸目は 2 年魚が全部，3.0 寸，3.5 寸及び 4.0 寸目では 3 年魚が 81%，4 年魚が 19% である。4.2 寸目は 4 年魚が 72%，3 年魚は 26%，4.5 寸目は 4，5 年魚が殆んど (79%) であるが，3 年魚が 7 月に入つて 2 地点 (F 9，13) で捕獲されているが，商業用漁獲対象となるものは主として 4 年魚のように思われる。

3) 普通流網と三枚網の羅網結果の比較

三枚網は漁具構造から接網した魚を，魚体の大小に拘らず全部捕え得ると，一応予想されるが，実際の漁獲結果をみると，[illegible]集計した数より必ずしも多くない。この理由について予想出来ることは，

Table 3. Ages of fish included in the highest fork-length group in each histogram Fig. 2

Kind of fish	Fork length (cm)	Mash size (Sun)	Fish number of the age ( )%														
			2Y	3Y	4Y	4_2Y	4_3Y	5Y	5_1Y	5_2Y	5_3Y	5_4Y	6Y	6_2Y	6_3Y	6_4Y	7_4Y
Sockeye	35～40	2.5				1 (4)	20 (87)		1 (4)			1 (4)					
	45～50	3.0, 3.5				10 (20)				6 (12)	27 (54)				2 (4)	5 (10)	
	50～55	4.0				1 (3)				6 (15)	15 (37)				12 (30)	4 (10)	2 (5)
	55～60	4.2, 4.5								7 (21)	4 (12)			5 (15)	15 (45)	1 (3)	1 (3)
Chum	30～35	2.5	36 (100)														
	45～50	3.0, 3.5, 4.0		86 (81)	20 (19)												
	50～55	4.2		21 (26)	57 (72)			1 (2)									
	55～60	4.5		7 (16)	23 (52)			12 (27)					2 (5)				

i) 三枚網に於いて1つの外網を1尾の魚が通過して中網を押し，反対側にある外網を通つて袋状になつた中網に包まれて纒落すると，最初中網の持つていたたるみは局部的になくなり，次第に羅網魚が多くなると遂には中網が魚の進行して来た側の反対側の外網と接触して，1枚の網の様になつて三枚網の効果を失うに至るのではないかと思われる。従つて濃漁群の場合はますます三枚網は不利になる。(第4表)

Table 4. Comparison of the rate of fish caught with ordinary gill net and trammel net when fish school became dense (F 3)

	2.5 Sun	3.0 Sun	3.5 Sun	4.0 Sun	4.5 Sun	Total	Trammel net
Pink	3.27	37.07	62.85	12.15	1.08	116.42	27.74
Chum	0	0	0.21	0.85	0.54	1.60	0
Sockeye	0	0	0	0.25	0.27	0.52	0

ii) 三枚網は潮流のない時は 3 枚の網が接して厚い（普通流網に比して）ベール状をなして視認されやすく，潮流のある場合は抵抗の大きい中網が潮流下にある外網と接して風をはらんだ帆の様になり，潮流上にある外網との間に間隔が出来，魚は外網附近の水流の攪乱を感覚し中網まで進まず回避して了うこともあるのではないかと思われる。

三枚網には小型魚の羅網が割合多く，三枚網単位面積当り漁獲尾数は普通流網各種網目単位面積当り漁獲尾数の全目合総計に対し，体長 30～40 cm の魚では 20～30%，体長 40～70 cm の魚では 10 % 以下となる。(第 5 表) 以上の事から三枚網捕獲魚の組成が棲息魚群組成を代表すると考えることは出来ないことが判る。

Table 5. Distribution of fork length on fish caught with ordinary gill nets and trammel net

F. L. (cm)	26～30	～35	～40	～45	～50	～55	～60	～65	～70	～75	～80
Ordinaly gill net	12	217	95	1505	2443	315	185	56	8	3	2
Trammel net	0	67	22	139	65	10	5	2	1	0	0

4) 漁場別の魚群組成と二三の海況

北洋でサケマスの漁場を形成する海域は，大体に於て船団の行動によつて察知されるが，船団と別行動をしたおしよろ丸の調査を合せて次の事が考えられる。

i) 170°E 以西の北千島東方海域にはマスの濃群が出現しており，F 3 に於ては 3.5 寸目網では単位長さ当り 62.85 尾を記録したが，魚体は全体的にやや小型群 (F. L. 40～45 cm) である。この海域は表層から水深 20～30 m 迄に 5～6°C の水温帯が西に張り出していた。

ii) 一般に低水温 (3～5°C) に多いシロ[2] が東部アリュウシヤン列島 (172°W) 南方 (50°N) の試験点 (F. 9) で水深 40 m 位迄が 8°C の水温を示す海域にて，同緯度の西側 (175. 5°E) でこれより低水温の試験点 (F. 8, 水深 30 m で 5.93°C) 及びアリュウシヤン列島北側の試験点 (F. 11, 水深 30 m で 7.91°C) に比し，各網目とも漁獲が多かつた。(羅網方向南又は東) これ等は殆んどが 3 年魚で，生殖巣は未成熟で，その年の北洋の魚獲対象となるものとは別系統のものではないかと思われる。

iii) 列島に接近した冷水域 (F. 10, 0 m 水温 6. 1°C) はベニ，シロが多く，魚体も大型であるが，マスが少くない。

iv) 同一地点 (F. 5, 13) で時期を異にした試験

アッツ島南西方で 6 月 24 日と 7 月 14 日に殆んど同一地点で行つた試験では，初回は船団も附近にあつて好漁場を形成しており，第 2 回目はこれより 3 週間経過して既に漁場は西に移動し，盛漁期を去つている形であつた。2 回の試験結果について魚種別に比較すると，各魚種とも個体数は第 2 回には減少して，ベニは第 1 回の 27%，シロは 18%，マスは 17%であつた。体長組成については第 2 回は第 1 回に比べ，ベニ，シロは大型に移つており，マスは変化が少ない。性比は初回に雄が多く次回は反対に雌が多かつた。生殖巣の成熟度は第 6 表の通りで，この事は石田，宮口の報告[3] によつてみると，ベニ，シロは初回には成熟，未成熟相半ばするが，次回はベニが 2 対 1，シロが 9 対 0 と成熟魚が多くなつており，マスは初回雄で G. W. 20 g 以下が多いが大部分は 20 g に近い重量

Table 6. The rate of gonad maturity at different times at same position

			Sockeye		Chum		Pink	
			♀	♂	♀	♂	♀	♂
F 5	G. W.	20 g <	6	2	6	3	5	8
		20 g >	5	2	5	4	0	9
	Total		11	4	11	7	5	17
F 13	G. W.	20 g <	10	2	9	3	16	8
		20 g >	5	2	0	1	0	0
	Total		15	4	9	4	16	9

で未だ洄游が長いものと思われる。次回は生殖巣がよく張つていた。

v) 若 年 魚

アリュウシヤン列島に近接した F. 10 の地点では，若年魚は全く捕獲されなかつたが，その他の地点では殆んど常にベニかシロの若年魚が捕獲された。7月9日アリュウシヤン列島中央北側 (F. 12), 7 月 15 日北千島東方 (F. 14) で，シロの若年魚が相当の密度で捕獲された事から，若年魚群は水温が上昇し (F. 12—6.6°C, F. 14—7.2°C)，商業漁獲の盛漁期を過ぎた頃からこれ等の海域を洄游するものと思われる。

V 要　　約

練習船おしよろ丸は 1957 年 6 月 6 日から 7 月 21 日の間に北部北太平洋，ベーリング海に於て，網目の異なる 6 種類の流網及び三枚網を使用して，14 回サケマス漁獲試験を行なつた。その結果，概要は次の通りである。

1) 各種網目流網単位面積当り漁獲尾数を合計すると（三枚網を除く）シロ，ベニが夫々 26% 及び 8%，マスは 65% であつた。マスの多かつたことはこの年が，マスがアジヤ側豊漁年と云われているのと一致する。網目別の羅網率はマスは 3.5 寸目 (44%), 3.0 寸目 (32%) が最も良く，シロは 3.0 寸，3.5 寸及び 4.0 寸目は夫々大差がない (15%)。ベニは 3.0 寸，3.5 寸目は大差なく (21%), 4.0 寸，2.5 寸目がこれに次ぐ (18%)。

2) 網目の大さと羅網魚の体長並びに年令との関係は，マスは各種網目にもその F. L. は 40～50 cm の魚が主体をなしている。シロでは 2.5 寸目は F. L. 30～35 cm で 2 年魚，3.0 寸，3.5 寸及び 4.0 寸目は F. L. 45～50 で 3 年魚，4.2 寸目は F. L. 50～55 cm で 4 年魚，4.5 寸目は F. L. 55～60 cm で 4 年魚が主体をなしている。又ベニでは，2.5 寸目は F. L. 35～40 cm で 4 年魚，3.0 寸，3.5 寸目は F. L. 45～50 cm で 5 年魚，4.0 寸目は F. L. 50～55 cm で 5年魚及び 6 年魚，4.2 寸，4.5 寸目は F. L. 55～60 cm で 6 年魚が夫々主体をなしていた。

3) 三枚網の単位面積当り羅網率は各種目合流網の集計した羅網率と較べると，必ずしも多くなく，特に濃密群に対しては漁獲が低下する。三枚網の羅網魚は各種目合流網漁獲魚に比べ小型である。

4) 東部アリュウシヤン列島南方 (F. 9) の比較的高水温 (8°C) でシロの 3 年魚群が各網目に羅網

した。

5)　アリュウシヤン列島に接近した冷水域ではベニ，シロの大型魚が多く，マスが少ない。

6)　アッツ島南西方で 3 週間の時期を異にした同一地点の漁獲試験で，体長組成ではマスは変化なかつたが，ベニ，シロは大型に移動している。性比は一般に初回に雄が多く次回には雌が多い。生殖巣の熟度は初回は成熟，未成熟が相半ばしているが，次回では殆んどが成熟している。

7)　殆んどの試験点でベニ，シロの若年魚が捕獲されたが，若年魚群は水温の上昇した商業漁獲の盛漁期を過ぎた頃からこれ等の海域に洄游するものと思われる。

文　　献

I. N. P. F. C. (1957). *Statical Yearbook, 1957.* Canada: International North Pacific Fisheries Commission.

石田昭夫・宮口喜一 (1958). 冲合におけるサケ・マスの生殖素重量の変化からみた性成熟に関するいくつかの問題について. 北水研研究報告 (18).

田口喜三郎 (1956). 北洋の鮭鱒漁業とその資源. [p. 195]. 北洋資源研究協議会.

可溶性アルギン酸塩類に関する研究

第3報　同一のアルギン酸に由来するリチウム，ナトリウム，カリウム，アンモニウム各塩類の metachromasy について

小　黒　美　樹
（北海道大学水産学部海藻化学教室）

Studies on Soluble Alginates

(III) On the metachromasy of the soluble alginates lithium alginate, sodium alginate, potassium alginate and ammonium alginate

Miki Oguro

Abstract

The purpose of this series of reports is to compare spectrochemical and colloidal properties of various soluble alginate solutions which were made from a batch of alginic acid.

The preparations of soluble alginate from the alginic acid, were lithium alginate, sodium alginate, potassium alginate and ammonium alginate.

In the investigation, there were observed spectrochemically certain changes in absorption spectrum of metachromatic dye of toluidine blue to the soluble alginate solutions.

The results obtained are summarized as follows:

1. In the concentration of 0.0046 per cent of lithium alginate, the absorption spectrum changes so remarkably that the optical density of μ-band shows its highest peak of absorption at 550 mμ, even the bands of α- and β- fade and almost vanish. However, metachromatic effect occurs in sol algin where algin ions would be able to move apart; the actual number of dissociated radicals in algin molecule will have influence upon both the polymolecula aggregation and the resonance of the dye molecule.

From the results with concentration of 0.0046 per cent of lithium alginate solution, it seems to be the case that the actual number of dissociated in algin will combine all ions of the dye molecule.

2. From the results of this series of reports I and II, it is suggested that the molecules of sodium alginate, potassium alginate and ammonium alginate in solutions are folded into random coils whereas the chain of lithium alginate molecules is unfolded.

3. The molecule of sodium alginate is not unfold as the molecule of lithium alginate and rather it seens that the molecule sodium alginate was formed of random coils.

The peak of μ- band occurs at 550 mμ in lithium alginate and at 552 mμ in sodium alginate, and α- band seems to be the absorption at 640 mμ, in sodium alginate solution of about 0.0046 per cent.

At the concentration of 0.0046 per cent sodium alginate, though the β- band has quite disappeared, yet the α- band is observed slightly.

It seems that its algin ion will be combine a great portion of the dye.

4. The peak of μ- band occurs at 552 mμ in potassium alginate while in the ammonium alginate it occurs at 550 mμ. On the other hand, the intensity of α- band seems to exist at 640 mμ in potassium alginate and at 650 mμ in ammonium alginate. The intensity of β- band was seen at 590 mμ in ammonium alginate.

At the concentration of 0.0079 per cent potassium alginate, the intensity of β- band has quite disappeared, α- band was observed to be larger in ammonium alginate than in potassium alginate. However, the molecula of ammonium alginate in solution are folded into random coils and it is seen that the radicals in algin will combine a part of the dye.

緒　　言

P. Ehrlich は，生物学的な組織染色とか，生体染色に於て，種々の物理的乃至化学的な原因によつて，染色される色調が，往往にして，もとの色素溶液の色調と異なる現象をメタクロマジーと始めて命名した。

その後，多くの研究者によつて可成り精細に研究されたが，最近に於て，L. Michaelis 及び Granik[1] によれば，塩基性色素が高分子電解質と結合する際に，二分子会合体が出来ることが，その原因かも知れないと述べている。又立花[2] は石鹼のような，コロイド溶液に於て，ミセルを形成する限界濃度をメタクロマジーを起す Pinacyanol の如き色素を用いて色調の変化から求めている。

天然産高分子電解質であるアルギンのメタクロマジーについての研究は少く，僅かに，アルギン酸ナトリウム水溶液と Toluidine Blue 及び Thionin とのメタクロマジーについて，加藤[3] の研究があり，又，アルギン酸カリウム水溶液については寺山の研究があるのみであるが，可溶性アルギンの中 [illegible]

[illegible] アルギン酸ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に屈曲にとみ，絲球状になる度合が大きくなることを知つた。

著者は，本報において，同一のアルギン酸から同一の条件で調製した塩類が，それぞれ水溶液中に於て，粒子の分散する状態を光化学的なメタクロマジーについて研究を行い，検討した結果について報 [illegible]

実　験　の　部

I. [illegible]

前報に用いたものと同一のアルギン酸塩類を試料とし，再蒸溜水を添加，溶解後一昼夜或はそれ以上放置して分散を完全ならしめたものを用いた。

色素は Grübler's Toluidine Blue O の 2.7 mg M/L (pH 5～6) 溶液を用いた。

II. 測定方法

アルギン酸アルカリ溶液の 20 ml をとり，それに 2.7 mg M/L Toluidine Blue 溶液の 0.2 ml を加えて充分振盪混合し，数分静置後，島津製ベツクマン型分光光度計 DU 型を用いて可視部，即ち 400 mμ [illegible] 750 mμ [illegible] 10 mμ [illegible] Optical Density [illegible] 0.7857 g/dl～0.00007 g/dl である。凡ての測定温度は室温で 17°～20°C である

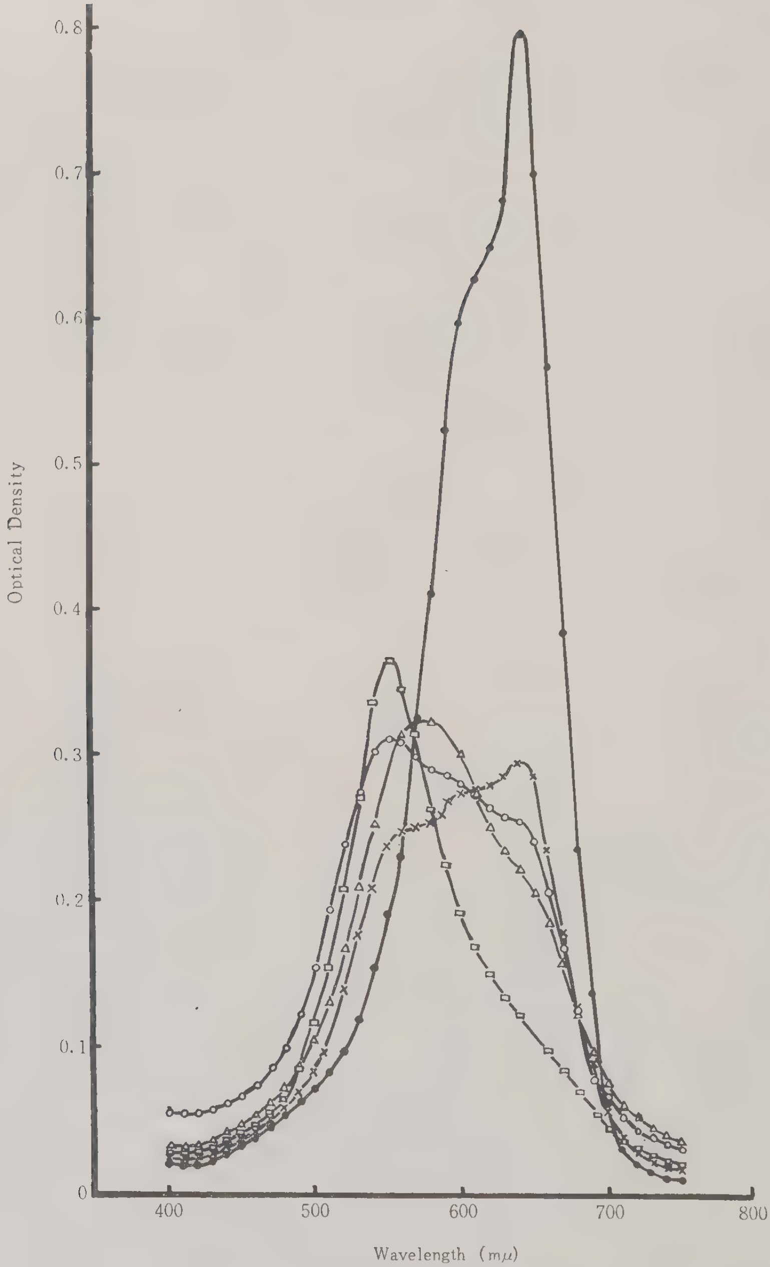


Fig. 1. Absorption Spectra of Toluidine Blue in Water and in Lithium Alginate Solution

●——● in H_2O
○——○ in 0.7617 g/dl Li-alginate
△——△ in 0.213×10^{-1} g/dl Li-alginate
□——□ in 0.46×10^{-2} g/dl Li-alginate
×——× in 0.72×10^{-4} g/dl Li-alginate

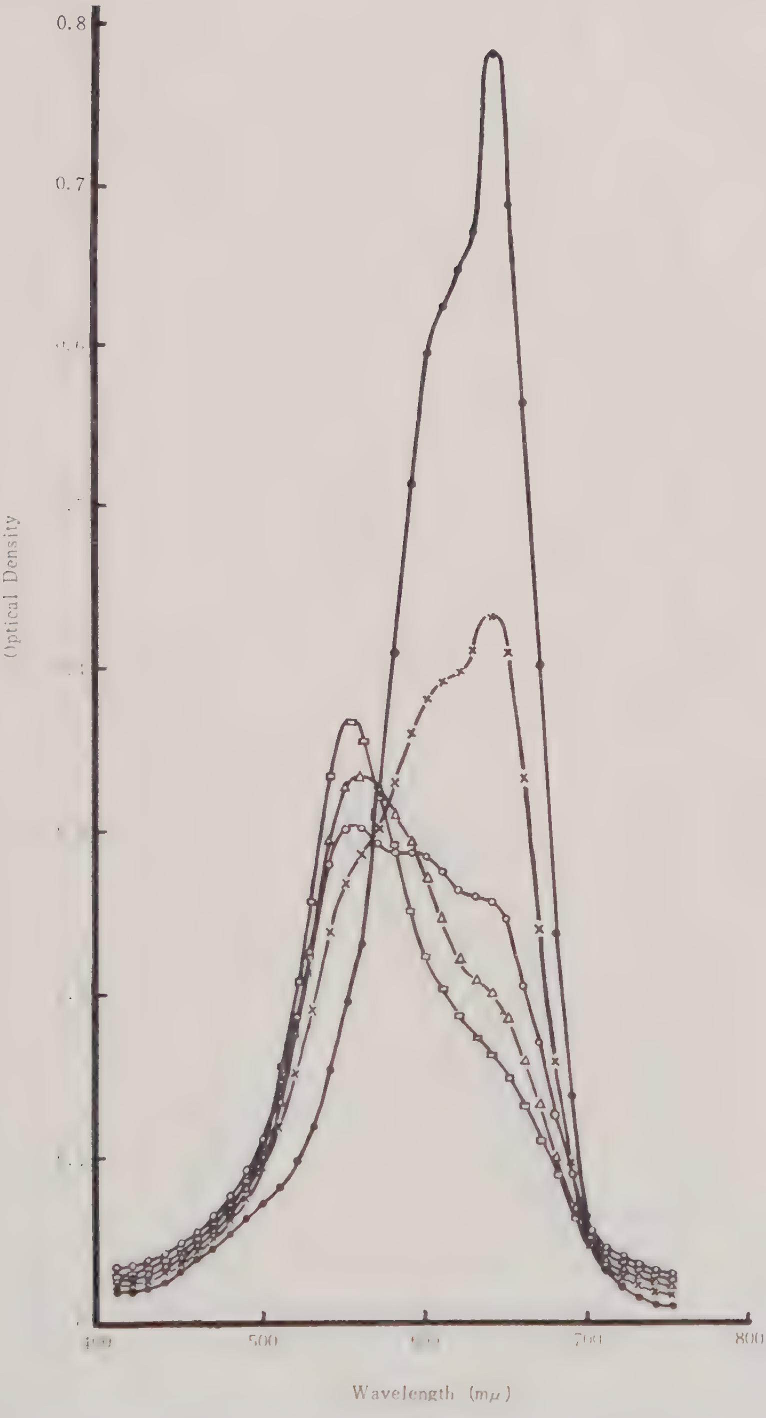


Fig. 2. Absorption Spectra of Toluidine Blue in water and in Sodium Alginate Solution

●——● in H_2O
——— in 0.2796 g/dl Na-alginate
△——△ in 0.219×10^{-1} g/dl Na-alginate
□——□ in 0.46×10^{-2} g/dl Na-alginate
×——× in 0.7×10^{-4} g/dl Na-alginate

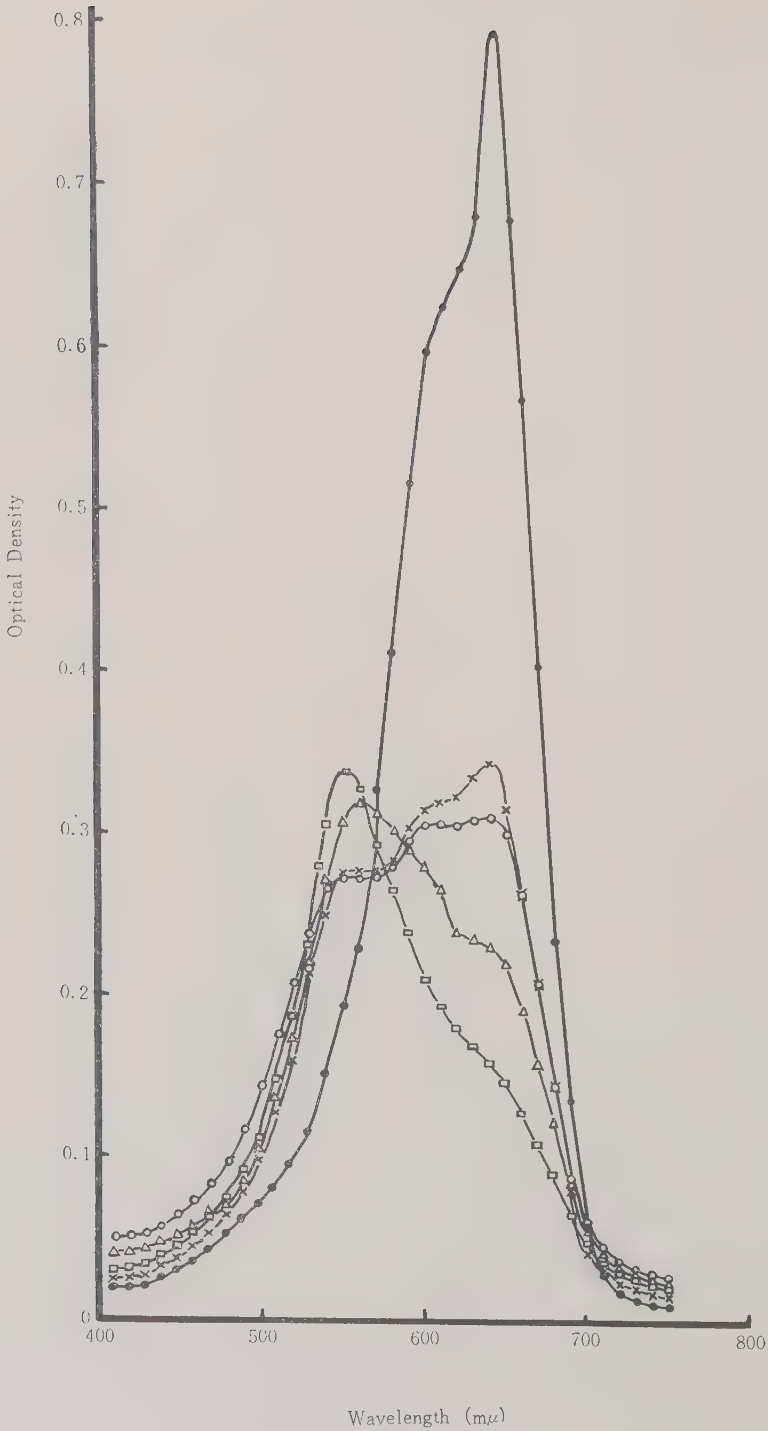


Fig. 3. Absorption Spectra of Toluidine Blue in water and in Potassium Alginate Solution

●——● in H_2O

○——○ in 0.7857 g/dl K-alginate

△——△ in 0.219×10^{-1} g/dl K-alginate

□——□ in 0.47×10^{-2} g/dl K-alginate

×——× in 0.72×10^{-4} g/dl K-alginate

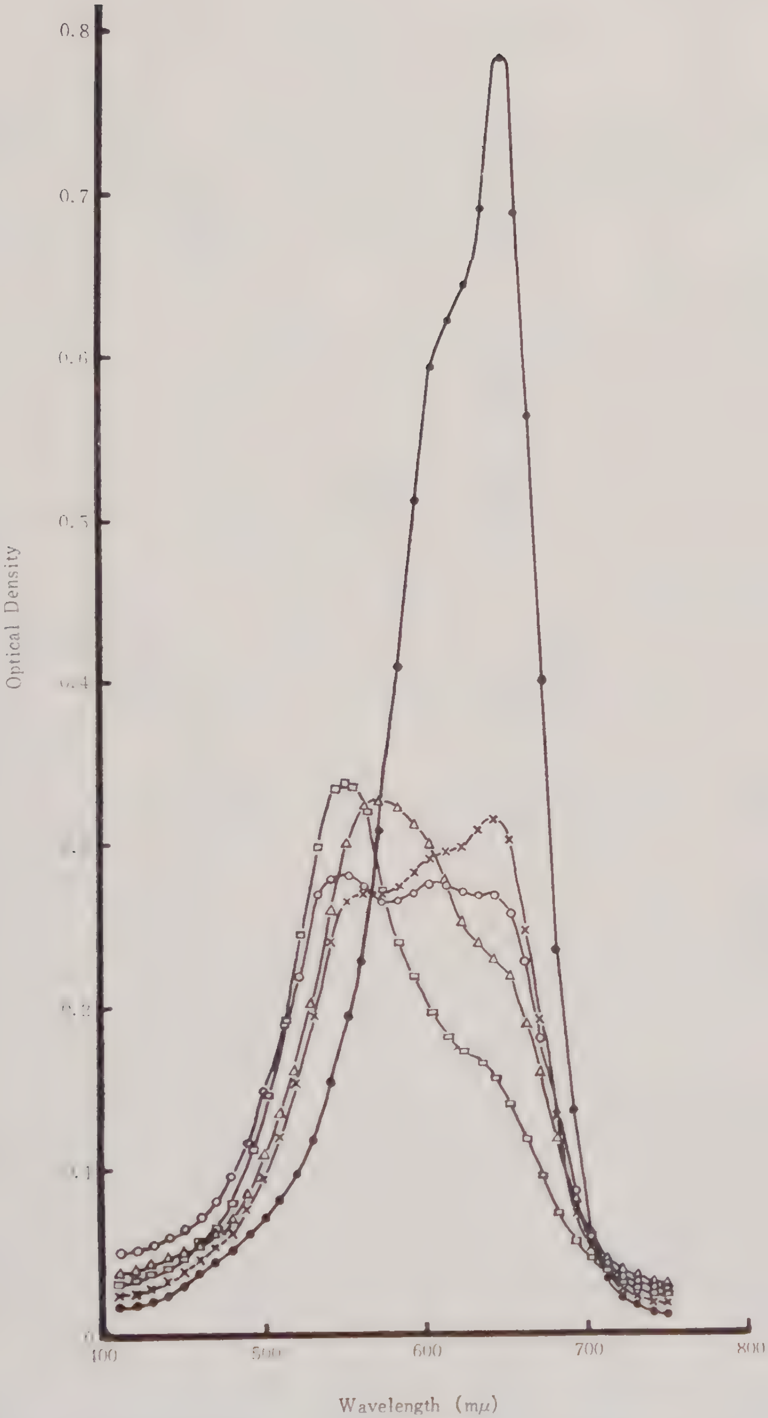


Fig. 4. Absorption Spectra of Toluidine Blue in water and in Ammonium Alginate Solution

● —— ● in H_2O
—— in 0.6301 g/dl NH_4-alginate
△ —— △ in 0.294×10^{-1} g/dl NH_4-alginate
□ —— □ in 0.38×10^{-2} g/dl NH_4-alginate
× —— × in 0.8×10^{-4} g/dl NH_4-alginate

実 験 結 果

Toluidine Blue 水溶液及びアルギン酸リチウム，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の吸収曲線はそれぞれ 第 1 図，第 2 図，第 3 図，第 4 図の通りである。Table 1 には，これらアルギン酸

Table 1. The intensities of Band Maxima in 2.7 mg/L solution of Toluidine Blue

1. Li-alginate solution

Concentrations g/dl	α-Band		β-Band		μ-Band	
	mμ	O. D.	mμ	O. D.	mμ	O. D.
0	640	0.792	610	0.643	—	—
0.7617	640	0.255	607	0.275	555	0.312
0.213×10^{-1}	640	0.208	600	0.300	575	0.325
0.46×10^{-2}	640	(0.124)	(600)	(0.197)	550	0.376
0.72×10^{-4}	640	0.296	610	0.299	555	0.246

2. Na-alginate solution

Concentrations g/dl	α-Band		β-Band		μ-Band	
	mμ	O. D.	mμ	O. D.	mμ	O. D.
0	640	0.792	610	0.643	—	—
0.2796	640	0.258	590	0.288	560	0.304
0.219×10^{-1}	640	0.165	(600)	(0.275)	559	0.336
0.46×10^{-2}	640	0.164	(600)	(0.223)	550	0.368
0.7×10^{-4}	640	0.433	610	0.392	558	0.255

3. K-alginate solution

Concentrations g/dl	α-Band		β-Band		μ-Band	
	mμ	O. D.	mμ	O. D.	mμ	O. D.
0	640	0.792	610	0.643	—	—
0.7857	640	0.311	600	0.305	550	0.274
0.219×10^{-1}	640	0.233	605	0.282	550	0.320
0.47×10^{-2}	640	0.161	(600)	(0.216)	550	0.350
0.74×10^{-4}	640	0.343	600	0.315	550	0.278

4. NH_4-alginate solution

Concentrations g/dl	α-Band		β-Band		μ-Band	
	mμ	O. D.	mμ	O. D.	mμ	O. D.
0	640	0.792	610	0.643	—	—
0.6301	640	0.270	605	0.279	550	0.283
0.294×10^{-1}	640	0.233	600	0.303	570	0.329
0.38×10^{-2}	640	0.158	(600)	0.205	548	0.340
0.8×10^{-4}	640	0.317	600	0.292	560	0.272

塩類の α-Band, β-Band 及び μ-Band の最高吸収値を示した。

Toluidine Blue 水溶液は，可視部に 640 mμ (α Band) と 610 mμ (β Band) との 2 つの吸収極大を生ずるが，アルギンの添加によつて，これらの α-Band 及び β-Band は軽減或は消滅し，そして 550 mu 前後に新しい μ-Band がメタクロマテツクな性質によつて生ずる。水溶液の色調は，水に於ては Blue であるがアルギン溶液に於ては Purple に変化する。

1. アルギン酸リチウム溶液

第 1 図より明らかな如く，アルギン酸リチウム溶液の濃度 0.7617 g/dl に於て，555 mμ に新しいメタクロマテツクな μ-Band を生ずる。他方 610 mμ の β-Band に於ては，1/2 に減少し，640 mμ の α-Band に至つては 1/3 に減少している。0.213×10^{-1} g/dl では μ-Band は 575 mμ に移行すると共に前者のよりも高い値を示すが，それに伴なつて β-Band は消滅し，α-Band は可成りの減少が見られる。濃度 0.46×10^{-2} g/dl に於て，μ-Band はもつとも短波長側の 550 mμ に生じ，Optical Density は最も高い値を有する。α-Band 及び β-Band は完全に消滅している。これは，アルギン酸リチウム分子と色素 Toluidine Blue 分子とが完全に結合したものと考えられる。

アルギン酸リチウム水溶液の濃度が稀薄になるにしたがつて，μ-Band は，やや長波長側にずれると共に Optical Density は減少し，610 mμ の β-Band 及び 640 mμ の α-Band の Optical Density は漸増しつつ，Toluidine Blue 水溶液の吸収曲線に近づく。

2. アルギン酸ナトリウム溶液

アルギン酸ナトリウム溶液と Toluidine Blue との吸収曲線は第 2 図より判るように，アルギン酸リチウム溶液で述べた如き傾向を示す。これは，他のアルギン酸カリウム，アンモニウム塩溶液についても同様である。

アルギン酸ナトリウム溶液の濃度 0.46×10^{-2} g/dl に於て，μ-Band は短波長側の 550 mμ に生じ，Optical Density は最も高い値を示しておるが，他方の β-Band は消滅しているが，640 mμ の μ-Band はわづかに見られる。

3. アルギン酸カリウム溶液

濃度 0.47×10^{-2} g/dl のアルギン酸カリウム溶液（第 3 図）に於ては，μ-Band は 550 mμ の短波長側に生じ，Optical Density は最も高い値を示しているが，α-Band は前者のアルギン酸ナトリウム溶液の Optical Density よりもやや高い値を示している。β-Band は完全に消滅している。

4. アルギン酸アンモニウム溶液

アルギン酸アンモニウム溶液に於て，メタクロマテツクな性質によつて生ずる μ-Band は，濃度 0.38×10^{-2} g/dl に於て，Optical Density は最高値を示し，短波長側，即ち 548 mμ に生ずる。α-Band は前者の塩類溶液中一番高い Optical Density を示している。β-Band は消滅している。

これら塩類の水溶液に於て，メタクロマテツクな性質によつて生ずる，新しい吸収帯 μ-Band の Optical Density は，アルギン酸リチウムに於て最も高く，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に漸減している。又 α-, β Band はアルギン酸リチウム溶液に於ては殆んど見られず，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に吸収も次第に大きくなり，その値は増加している。

考　　　　察

以上の結果から，メタクロマテツクな性質によつて生ずる μ-Band は，各塩類共に 0.46×10^{-2} g/dl ~0.48×10^{-2} g/dl の稀薄な溶液に於て生ずる。

Toluidine Blue と Algin との吸収曲線は非常に特質のある性質を示しており，α-Band や β-Band は消滅し，そして新しい μ-Band が出現する。α-Band は 640 mμ，β-Band は 590~610 mμ で，メ

タクロマテツクな性質によつて生ずる μ-Band は 548~575 mμ にそれぞれの最高吸収を示す。

一般にアルギン酸塩類は，濃度の増加にともなつて，μ-Band が生じ，Optical Density も高くなる。それに従つて，α-Band，β-Band も消滅し，或は絶滅してしまう。特に顕著にメタクロマジクの起きる濃度は，各塩類溶液に於て異なるが，アルギン酸リチウム溶液では 0.46×10^{-2} g/dl，アルギン酸ナトリウム溶液では 0.46×10^{-2} g/dl，アルギン酸カリウム溶液では 0.47×10^{-2} g/dl で，アルギン酸アンモニウム溶液に於ては 0.38×10^{-2} g/dl である。概して稀薄溶液に於てメタクロマテツクな性質がよく表われている。

第1図，第2図，第3図，第4図より判る如く，メタクロマテツクな性質によつて生ずる μ-Band の Optical Density は，アルギン酸リチウム塩が最も高く，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に低くなつている。又，吸収曲線の形状は，アルギン酸リチウム塩に於ては，鋭利な曲線を呈しているのに反し，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に，鋭利さがなくなり，平らたくなつ

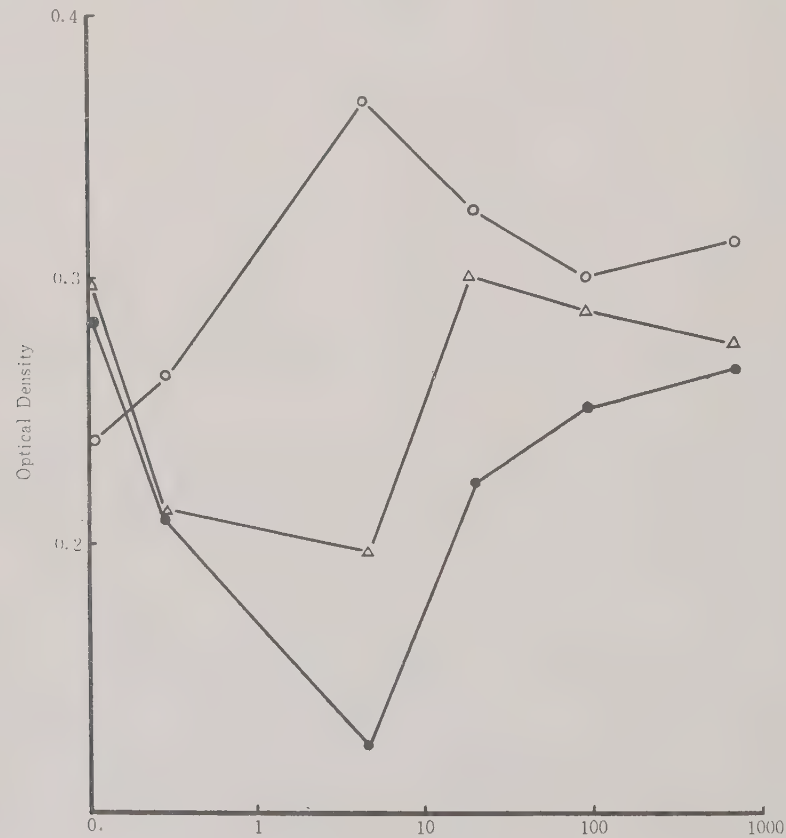


Fig. 5. The Variations in Intensities of Absorption Maxima of Toluidine Blue in water and in Lithium Alginate Solution

●——● α-Band 640 mμ

△——△ β-Band 600~610 mμ

○——○ μ-Band 550~575 mμ

て来る。第 5 図，第 6 図，第 7 図及び第 8 図は α-Band，β-Band 及び μ-Band 等の最大の Optical Density と濃度との関係を示したものである。これらの図から明らかなように，アルギン酸塩類の濃度が高くなるにつれて μ-Band の Optical Density は増加するが，アルギン酸リチウム塩に於ては最も急激に増加し，0.46×10^{-2} g/dl で最高値を示す。ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩については，μ-Band の Optical Density の増加は，アルギン酸リチウムに見られた如き急激な増加はなく，次第に，ゆるやかな増加をみ，Optical Density の最高値は，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に低くなつている。

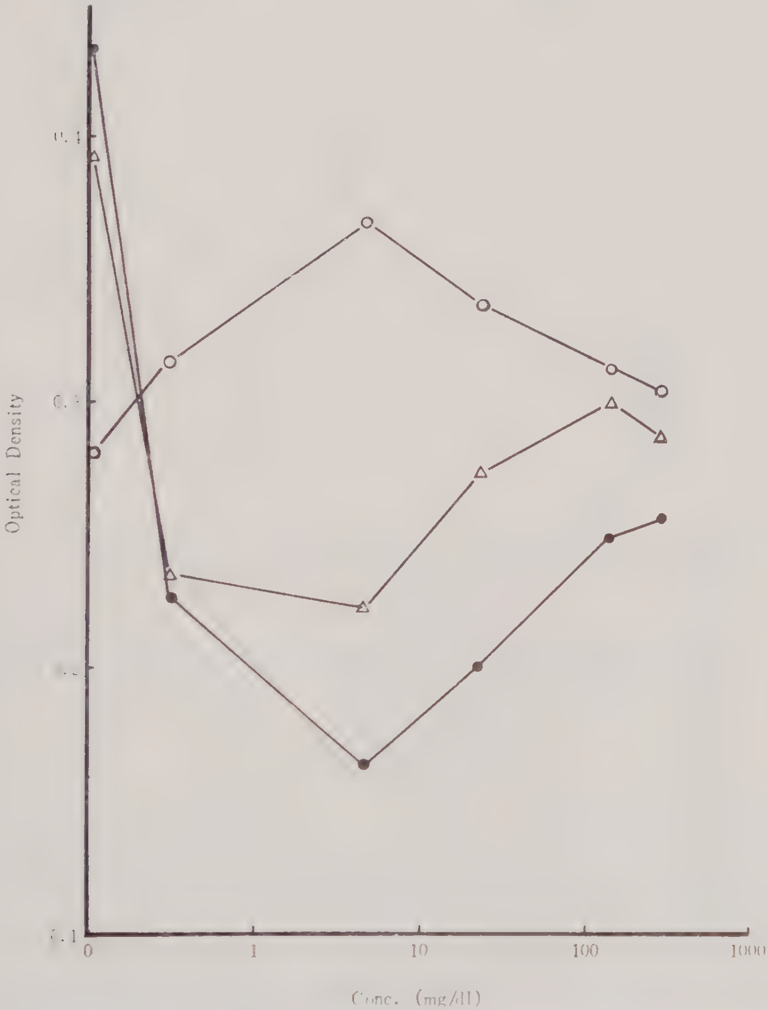


Fig. 6. The Variations in Intensities of Absorption Maxima of Toluidine Blue in water and in Sodium Alginate Solution

●——● α-Band 640 mμ

△——△ β-Band 590～610 mμ

○——○ μ-Band 550～560 mμ

尚，その他の α-Band の Optical Density は急激に減少し，0.46×10^{-2} g/dl 濃度のアルギン酸リチウムに於て最低値を示している。 μ-Band と α-Band との Optical Density の最高値と最低値との差は，アルギン酸リチウムに於て最も大きく，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に小さくなる。

以上の事から，アルギン酸リチウムにおいては，アルギンイオンと色素イオンとが完全に結合したので，メタクロマテツクな性質によつて生ずる μ-Band の Optical Density は最も高い値を示し，α-Band 及び β-Band は完全に消滅したものと考えられる。他の塩類に於ては，アルギンと色素イオンとの結合部分が少く，且，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に減少しているのは，μ-Band の Optical Density の減少，α-Band 及び β-Band の Optical Density の増加することからしてもうかがわれるだろう。

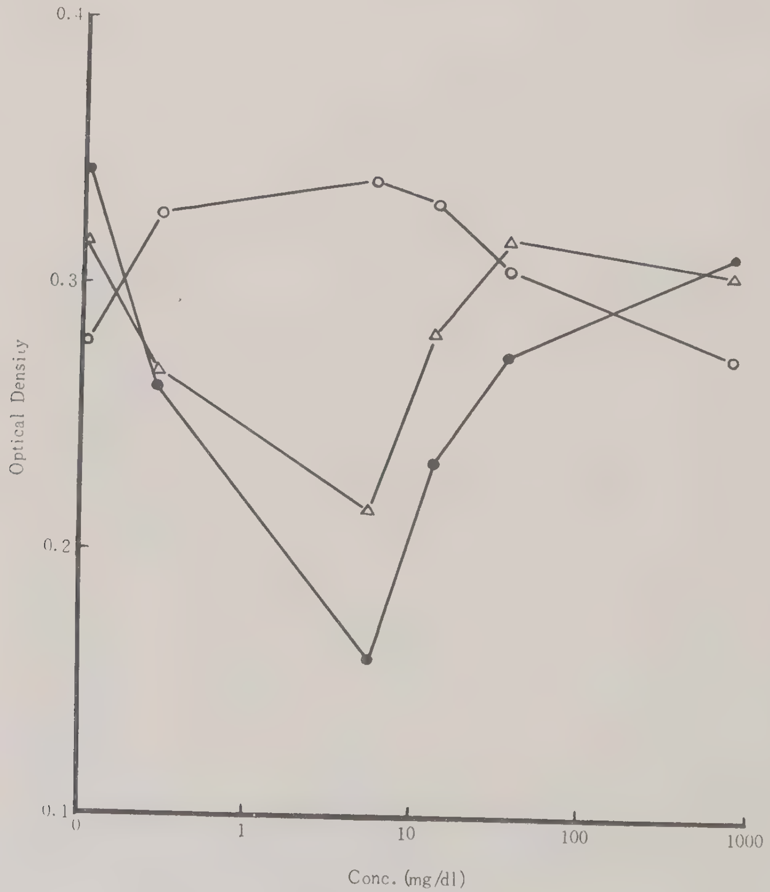


Fig. 7. The Variation in Intensities of Absorption Maxima of Toluidine Blue in water and in Potassium Alginate Solution

● —— ● α-Band 640 mμ
△ —— △ β-Band 595～610 mμ
○ —— ○ μ-Band 550～560 mμ

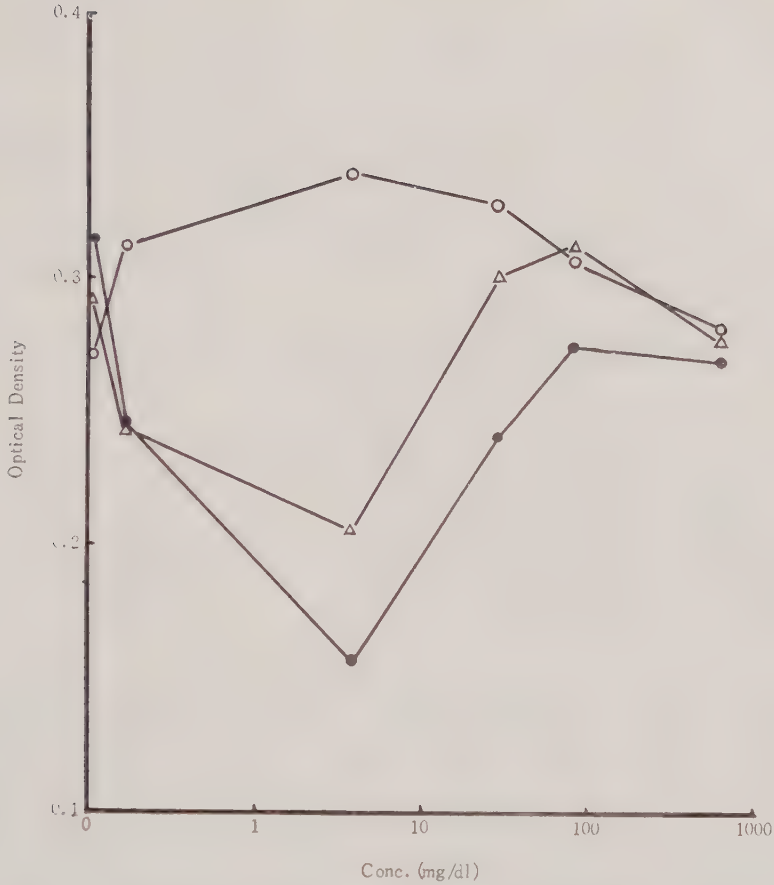


Fig. 8. The Variation in Intensities of Absorption Maxima of Toluidine Blue in water and in Ammonium Alginate Solution

●——●　α-Band　240　mμ
△——△　β-Band　598～610 mμ
○——○　μ-Band　548～570 mμ

これは，アルギン酸リチウムは溶液中に於て，その分子が伸び切つた形で分散し，解離しているので，解離基も，他の塩類に較べて多い為と考えられる。又，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩では，この順に，それらの分子は屈曲にとみ，絲球状になる度合も大きくなり，従つて解離基も次第に少くなる為と思われる。

かくの如く，アルギンと色素溶液とによるメタクロマジーを測定することは，高分子電解質の膠質化学物な性状の研究には非常に重要なものであろうと考える

要　　　約

同一のアルギン酸から同一の条件で調製した，リチウム，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩について，Toluidine Blue 色素を用い，メタクロマジーについて，島津製ベツクマン型 DU 型分光

光度計にて，400 mμ～700 mμ に亘つて 10 mμ 間隔で Optical Density を測定し，次の結果を得た。

アルギン酸リチウム溶液に於ては，最も顕著なメタクロマジーを生じ，アルギンイオンと色素イオンとが完全に結合したと考えられる。これは，溶液中に於て，アルギン酸リチウム分子は，伸び切つた形で分散解離しているので，解離基が他の塩類に較べて多いためであろう。

アルギン酸ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩では，アルギンと色素イオンとの結合部分は，ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に減少する為に，μ-Band の Optical Density は低くなり，α-Band 及び β-Band が増加する。このことは，アルギン酸ナトリウム，カリウム，アンモニウム塩の順に，溶液中に於て分子は屈曲にとみ，絲球状になる度合も大きくなるので，色素イオンと結合する解離も少くなる為であろうと思われる。

高分子電解質と色素即ち Toluidine Blue とのメタクロマジーを測定することは，高分子電解質の胆質化学的な性状の研究には非常に重要な事である事を示唆した。

文 献

1) Michaelis, L. & Granick, H. (1945). *J. Amer. Chem. Soc.* 67, 1212.
2) 立花太郎 (1951). 日本化学会誌 72, 113.
3) 加藤健司 (1953). 北大水産彙報 1 (4), 32.
4) 小黒美樹・鈴木 昇 (1956). 同 誌 2 (7), 134.
5) 小黒美樹 (1961). 同 誌 12 (1), 88.

水産動物筋肉の生化学的研究

第1報　ホタテ貝柱煮熟液に溶存する 5′-アデニール酸について

飯田　優・荒木　功・村田喜一
(青森県水産物加工研究所)（北海道大学水産学部食品化学教室）

Biochemical Studies on Muscle of Sea Animals

I. On adenylic acid in the boiled liquor with the muscle of scallop, *Pecten yessoensis*

Atsushi IIDA, Isao ARAKI and Kiichi MURATA

Abstract

The shell fish, *Pecten yessoensis* has been caught on Mutsu Bay in Aomori Prefecture and on the eastern coast of Hokkaido district, and its muscle has been boiled to make the dried products, Hotate Kaibashira, from it. Therefor much volume of boiled liquor with its muscle has been obtained as byproduct and spent.

The authors proved the presence of 5′-adenylic acid in its liquor and then estimated this acid content on some liquor by paperchromatography. Also the authors isolated crystal 5′-adenylic acid from some liquor, and some characteristics of this crystal were compared with those of standard material.

The authors can conclude that in future, this spent liquor may be possible a resource of 5′-adenylic acid.

ホタテ貝（*Pecten yessoensis*）は青森県陸奥湾及び北海道東海岸に於いて量産され，その貝柱筋肉(以下貝柱と記す）は煮乾品であるホタテ乾貝柱に加工されるが，その際貝柱煮熟残液が大量に副産され廃棄されている。一方ホタテ乾貝柱は製造後保管中に飴色から赤褐色乃至は黒褐色に変色することが多く，製品管理上の障害となつているが，著者等は此の変色原因を究明する意図で上記の貝柱煮熟残液について諸性質を調査している途中，同液中に稍々多量の 5′-アデニール酸（以下アデニール酸と記す）が溶存することを確認したので，その含量を測定し更にアデニール酸を結晶状に単離した。貝柱煮熟残液中のアデニール酸含量は第 4 表に示す如くであるが，著者等は煮熟残液同様に廃棄されているホタテ貝の他の組織についても同様の研究を進めている。

最近アデニール酸の薬理効果[1]が報告され，又諸種燐酸化合物の合成原料としてその利用面が開拓されつつあるが，現在徒らに廃棄されている貝柱煮熟残液がアデニール酸原料として利用されることを期待する次第である。以下ホタテ貝柱煮熟残液について著者等の行つた実験結果を報告する。

実 験 の 部

1) ホタテ貝柱煮熟残液中のアデニール酸の検出

試 料

昭和 35 年 7 月青森県陸奥湾に於いてホタテ貝柱煮熟残液 (第 1 表) を入手し，入手後直ちに少量のトルオールを加えて約 2 日間静置後遠心分離して，その上澄液を試料とした。

ペーパークロマトグラフィーによる検出方法及び結果

Table 1. Some characteristics of spent liquor boiled with muscle of *Pecten yessoensis*

Color	pH	NaCl g/100ml	Total-N mg/100ml	Amino-N mg/100ml	Total sugar g/100ml	Reducing sugar mg/100ml
Semitransparent orange brown	6.0	20.12	435	364	4.20	20

上記の試料をペーパークロマトグラフィーに展開したが，クロマト濾紙は 5% 塩酸で処理[2,3]した東洋濾紙 No. 51 を用い。20°±2°C で一次元上昇法を行つた。発色法は又クレオチドの検出を目的とし，そのためプリン・ピリミジン核の検出に *Vischer* 等[4]の硝酸水銀試薬による方法及びフロルエツセイン稀アンモニア溶液噴霧による紫外線透視法を，還元糖の検出にアニリン・ハイドロゲン・フタレート法[5]，オルシノール法[6]及び p-塩酸アニシジン法[7]を，燐酸エステルの検出にはモリブデン

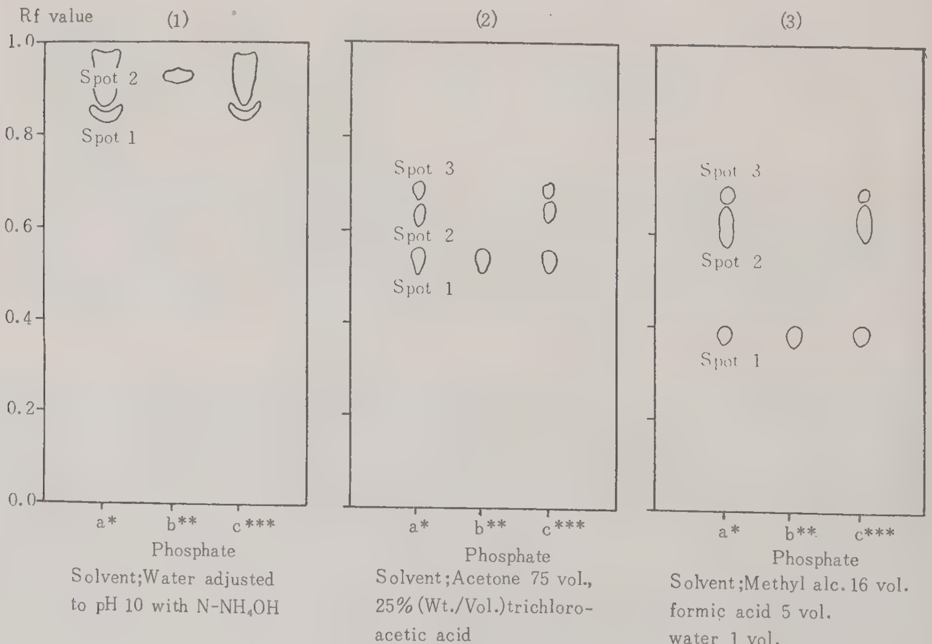


Fig. 1. Chromatograms of spent liquor boiled with muscle of *Pecten yessoensis*
a*) Liquor
b**) Standard 5′-adenylic acid; prepared by Daiichi Yakuhin Kagaku K. K.
c***) Mix. of liquor and standard adenylic acid

酸アンモン試薬[8]を噴霧して紫外線を照射[9]せしめる方法を夫々併用した。展開剤として pH 10 のアンモニア水[10]，アセトン・トリクロル醋酸[10]，メタノール・蟻酸・水[9]の三種溶剤を用いた。この結果第1図に示す如き各クロマトグラムを得た。各クロマトグラムのスポット I はいずれもプリン・ピリミジン核，還元糖，燐酸エステル陽性で又クレオチド類似の反応を示した。又アデニール酸標準品（第一化学薬品株式会社製）との共展開，混合展開によりその Rf 値はアデニール酸のそれと略々類似する結果を得た。又各クロマトグラムのスポット II と III は夫々次項アデニール酸の確認に際して行つた通りの方法で再抽出，再展開を行つて検討したところ，いずれもヌクレオチド以外の二種以上の物質からなるものであり，又これ等のスポット以外にアデノシンの存在を同様確認した。

1) ペーパークロマトグラフィー再展開によるアデニール酸の確認

前記の試験結果により得られたアデニール酸類似のヌクレオチドについてペーパークロマトグラフィーで再展開し，アデニール酸の確認を行つた。即ち前回同様の方法，条件によりメタノール・蟻酸・水を溶媒として展開したクロマトグラム多数からアデニール酸展開部（Rf=0.29）を切り取り，エーテル洗滌後これを 0.1 N-塩酸[11]で再抽出した。抽出液を毛細管に受け，これを試料として加熱することなくクロマト濾紙に塗沫し，各種溶媒で展開したのち前回同様の方法でヌクレオチドの検出を行い，第2表の結果を得た。即ち抽出液のクロマトグラムから常に一種のヌクレオチドを検出したが，

Table 2. Rf values of 5′-adenylic Acid

Solvent system \ Sample	Extract	Standard adenylic acid
n-BtOH, NH_3	0.04	0.04
Isopropyl alc., HCl	0.44	0.44
Na_2HPO_4, Isoamyl alc.	0.74	0.75
Water (pH 10)	0.93	0.93
Acetone, Trichloroacetic acid	0.52—0.53	0.52
MtOH, Formic acid, Water	0.39	0.39
Ethyl acetate, Acetic acid, Water	0.24	0.24

* Extracted from paperchromatogram of spent liquor boiled with muscle of *Pecten yessoensis*.

a) n-Buthyl alc. satd. with water at about 23°C 100 ml., 15N-NH_4OH 1 ml; Hotchkiss, R. D. (1948). J. Biol. Chem. 175, 315.

b) Isopropyl alc. 170 ml., concd. HCl 41 ml., water to make 250 ml.; Chargaff, E. & Davidson, J. N. (1955). "The Nucleic Acids". Vol. I, (p. 252). New York; Academic Press.

c) 5% aq. Na_2HPO_4 satd. with isoamyl alc., both aq. and nonaq. phase being present in the trough; Ibid. (p. 251).

d) Water adjusted to pH 10 with N-NH_4OH; Ibid. (p. 252).

e) Acetone 75 vol., 25% (Wt./Vol.) trichloroacetic acid 25 vol.; Ibid. (p. 251).

f) Methyl alc. 16 vol., 88% formic acid 3 vol., water 1 vol.; Bandurski, R. S. & Axelrod, B. (1951). J. Biol. Chem. 193, 405.

g) Ethyl acetate 3 vol., acetic acid 3 vol., water 1 vol.; Mortimer, D. C. (1952). Can. J. Chem. 30, 653.

その Rf 値はアデニール酸の Rf 値に一致し，アデニール酸との混合展開の結果両者の Rf 値は全く一致した。

別に試料の初展開クロマトグラム及びアデニール酸の同様クロマトグラムについて，これらからアデニール酸展開部を切り取り，エーテル洗滌後細かく切り，夫々 0.01 N–塩酸[12,13]，pH 2 塩酸[14]，pH 7 苛性ソーダ[14]，pH 10 苛性ソーダの各溶液中で 24 時間 37°C に放置して抽出を行い，これを濾過したのちベツクマン型光電光度計により吸収極大波長と 250, 260, 280 mμ 各波長に於ける吸光値の比を求めた。この結果は第 3 表に示す通りで試料クロマトグラムの各抽出液はアデニール酸の同様抽出液と略々同一の性状を示した。

Table 3. Absorption maxima and ratios at 250, 260 and 280 mμ of adenylic acid extracted from paperchromatograms and standard

	λMAX.		250/260		280/260	
	Extract	Standard adenylic acid	Extract	Standard adenylic acid	Extract	Standard adenylic acid
pH2 HCl	257	257	0.86	0.88	0.00	0.00
pH7 NaOH	258	258	0.85	0.86	0.10	0.15
pH10 NaOH	258	258	0.86	0.83	0.07	0.07
0.01 N HCl	157	257	0.86	0.84	0.10	0.10

以上の結果から前記ホタテ貝柱煮熟残液にはヌクレオチドが存在し，それがアデニール酸であることを確認した。

2) ホタテ貝柱煮熟残液のアデニール酸含量

煮熟残液中のアデニール酸をペーパークロマトグラフイーによつて分離したのち抽出し，抽出液の 260 mμ に於ける吸光値からアデニール酸含量を算出した結果について述べる。

検 量 曲 線

アデニール酸標準品 0～0.1 mM の 0.1 N 塩酸各溶液について，前項定性試験の場合と同様の方法条件で前述のアセトン・トリクロル醋酸を溶媒とする一次元クロマトグラフイーを行い，その展開部 (Rf＝0.48～0.57) を切り取り，エーテル洗滌，風乾する。此の濾紙片を短冊型に切つたのち目盛試験管にとつて 0.01 N 塩酸で全容を 5 cc とし，時々振盪しつつ 37°C に 24 時間放置して抽出を行つた。抽出液は濾過したのち 260 mμ に於ける吸光値を読み，第 2 図に示した如き検量曲線を得たが，この測定値より計算すると本定量法によるアデニール酸のミリモル吸光係数は 13.9±0.22 であつた。別に求めたアデニール酸標準品 0.1 mM · 0.01 N 塩酸溶液のミリモル吸光係数は 13.9 で文献値[13]に一致し，この結果から計算した本定量法によるアデニール酸回収率は 100±1.95% となつた。

試 料

青森県陸奥湾に於いて昭和 35 年 11 月より 36 年 2 月までに入手した四種類のホタテ貝柱煮熟残液を，入手後 3 日乃至 5 日間冷室内に静置して混濁物を沈澱せしめ，その上澄液をグラスフイルター (3 G 3) で濾過して供試した。

測定方法及び結果

試料毎に検量曲線を作製した場合と全く同様のクロマトグラフイー及び抽出を行つて，各試料 0.02 cc 宛のアデニール酸抽出液 3 ケ宛を作つた。クロマトグラムのアデニール酸展開部を試料，アデニー

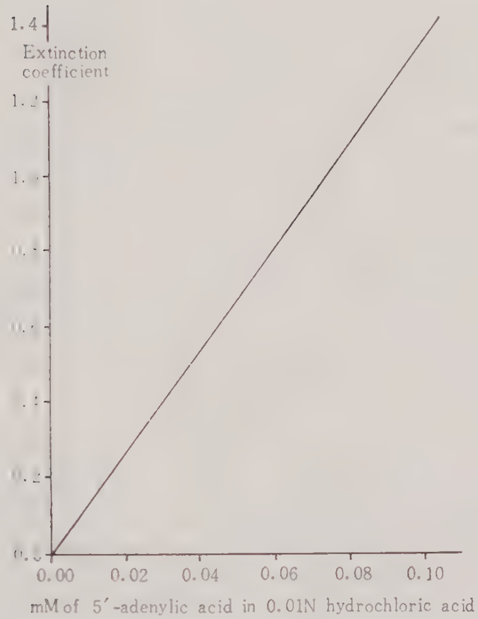


Fig. 2. Relation between the concentration of 5′-adenylic acid in 0.01 N hydrochloric acid and extinction coefficient at 260 mμ

Table 4. 5′-Adenylic acid content in spent liquor boiled with muscle of *Pecten yessoensis*

Sample No.	Date of collection	Freshness of origine muscle	Wt. (kg) of boiled muscle per total vol. (L) of liquor	Passed time on each sample before analysing from when prepared (day)	Content of adenylic acid	
					mM	g/L
I	Nov. 17, '60	fresh — ill fresh	1,190/200	15	2.94	1.10
II	Dec. 22, '60	very fresh	1,110/200	5	5.67	2.12
III	Jan. 7, '61	very fresh	850/200	3	2.88	1.00
IV	Feb. 7, '61	very fresh	1,060/200	3	4.93	1.80

ル酸標準品及び両者の混合物を一組のガイドストリップとして定量用試料の両端に展開せしめたのち，燐酸エステルの検出を行つて決定した。なお当展開部については同時に展開した別の 3 個のクロマトグラムについて，前項の定性確認試験の場合と同様の方法により，0.1 N 塩酸で毛細管内に再抽出したのちこれを pH 10 アンモニア水，アセトン・トリクロル醋酸及びメタノール・蟻酸・水の三種溶媒で再展開せしめ，プリン・ピリミジン核の検出を行つてアデニール酸以外に反応陽性物質が存在しな

いことを確めたものである。上記の試料抽出液の極大吸収は 257-260 mμ にあつたが，260 mμ に於ける吸光値の平均値から検量曲線によりアデニール酸のミリモル濃度を求め，抽出時の稀釈倍数を乗じて試料中のアデニール酸含量を算出し，その結果を第4表に示した。

煮熟残液のアデニール酸溶存量に影響すると考えられるホタテ貝柱の鮮度，貝柱処理総重量，煮熟液総延容量について現地で聴取した資料その他をも併わせて第 4 表に記した。現地ではふつう延べ 1000 kg 内外のホタテ貝柱を約 200 l の水で煮熟していたが，表記の試料は生産される煮熟残液を代表するものと考えてよく，従つて青森県陸奥湾に於いて 11 月乃至 2 月の冬季間に得られる煮熟残液は 1 l 当り 1 乃至 2 g 程度のアデニール酸を含有するものと考えられる。

なお，ホタテ貝柱を貯蔵する際の酸可溶核酸成分の変化については，新井氏[15,16]は ATP がアデニール酸を経てヒポキサンチンに迄分解することを報告している。著者等がこの実験に用いた煮熟残液にはアデニール酸以外のヌクレオチドをも溶存するものがあつたが，そのヌクレオチドは確認するに至らず，又ヌクレオシドの存在は認め得なかつた。

3) アデニール酸の単離

活性炭処理条件の検討

ホタテ貝柱煮熟残液の成分組成は第1表にその一例を示した如く，橙褐色を呈する混濁した液で 10 乃至 20 容量%の食塩をはじめ多くの無機，有機物が溶存している。この液からアデニール酸を単離するに先立つて活性炭処理による精製法を検討した。液中の混濁物質は静置することにより大部分が沈澱して除去出来るので，その上澄液を活性炭処理しアデニール酸の大部分を活性炭に吸着せしめ，水洗して水可溶物を完全に除去する。しかし活性炭にはアデニール酸以外に橙褐色の色素様物質も吸着され，溶離に際して従来活性炭からヌクレオチドを溶離するに用いられているアンモニア・アルカリ性アセトン，アンモニア・アルカリ性アルコール，ピリジン水溶液等[17]のアルカリ性有機溶剤を用いればアデニール酸の溶出液中に色素様物質が著しく混合溶出してくる。著者等は各種の溶離剤を検討したがその結果，塩酸，硫酸，過塩素酸等の酸性有機溶剤を用いるとアルカリ性溶剤に比較して溶出液中の色素様物質の混合溶出が少ないことを認めた。なおこの抽出法は継続検討中であるが，硫酸酸性溶剤を用いると溶出液中の酸根が容易に除去出来て後の処理が簡単なので，アデニール酸の分離に際しては下記の如く稀硫酸酸性エタノールを用いることとした。

試料及びアデニール酸分離の方法

Fig. 3. Isolation of 5′-adenylic acid from spent liquor boiled with muscle of *Pecten yessoensis*

Spent liquor
- filtered under reduced pressure through the layer of Hyflo Super Cel
- passed through column of active carbon and then column was washed with water
- eluted with 0.05 M sulfulic acid-30% ethyl alc.

Elutant
- neutralized with barium hydroxide and concentrated
- diluted with water to original volume
- added again barium hydroxide to make pH 8.2
- centrifuged

Supernatant
- concentrated
- added with acetic acid to make 0.2% acetic acid soln. and with 0.05 vol. of 20% mercuric acetate

Precipitate

washed with 0.2% mercuric acetate
suspended on water and was passed with hydrogen gas

Supernatant

excepted hydrogen sulfide gas by airation
centrifuged and filtered
added with acetone

Crude 5′-adenylic acid

前項のアデニール酸含量の測定に用いた試料 IV を用いた。これを冷室内に静置して得た上澄を活性炭処理したのち，*Kerr*[13] の分別沈澱法によつてアデニール酸を分離した。その概要は第3図に示した通りである。即ち煮熟残液 0.8 *l* を活性炭とハイフロ・スーパー・セルの混合カラム（重量比 1：1，98 cm^2×3cm）に通じ，カラムを約 2 *l* の水で洗滌したのち 0.05 M・硫酸酸性—30% エタノールでアデニール酸フラクションを溶出した。溶出液約 600 cc を集め，水酸化バリウム末で中和後 50°C 以下で減圧濃縮してエタノールを除去したのち再び水で 600 cc としたものを水酸化バリウム末で pH 8.2 とし一夜放置した。生成した沈澱はハイフロ・スーパー・セルの層を通して濾過し，濾液を稀硫酸で pH 7 とした後 50°C 以下で約 1/15 容量に減圧濃縮した。この濃縮液を 0.2% 醋酸酸性とし，これに約 0.05 部の 20% 醋酸第二水銀を加えて一夜放置，遠心してアデニール酸水銀を分離し，0.5% 醋酸水銀溶液で洗滌後，少量の水に懸濁させる。これに約 1 時間硫化水素を通じ，硫化鉄を遠心及び濾過して除去，沈澱を少量の水で洗つたのち，濾液を洗液を合してこれに通気する。これに約 1.5 倍容量のアセトンを加えると鱗片状白色沈澱が生ずるのでこれを濾別し，アルコール及びエーテルで洗い乾燥した。沈澱の乾燥重量は約 200 mg であつた。この沈澱はプリン・ピリミジン核，還元糖燐酸エステルの反応がいずれも陽性であり，ペーパークロマトグラフイーによるアデニール酸標準品との共同展開，混合展開によつてアデニール酸フラクションであることを認めた。次にこの沈澱を少量の熱水から再結晶を5回行い，アルコール，-エーテルで洗滌してシリカゲルのデシケータ中で乾燥し約 60 mg のアデニール酸とした。再結晶の際に熱水アセトン又は熱水アルコールを用いると白色針状のアデニール酸が得られるが，熱水再結では不定形な珊瑚状のアデニール酸が得られた。

分離したアデニール酸の性状

本品は硫酸浴による融点測定の結果 190～191°C で発泡分解し，又アデニール酸標準品は 191～192 °C で同様発泡分解し，両者の混合物は 190～192°C で発泡分解した。

Table 5. Absorption maxima and Ratios at 250, 260 and 280 mμ of 5′-adenylic acid obtained and standard

	λMAX.		250/260		280/260	
	Matter obtained	Standard adenylic acid	Matter obtained	Standard adenylic acid	Matter obtained	Standard adendlic acid
pH2 HCl	258	258	0.80	0.79	0.18	0.17
pH7 NaOH	260	260	0.71	0.72	0.12	0.11
pH10 NaOH	260	260	0.74	0.74	0.13	0.15
0.01 N HCl	258	268	0.79	0.81	0.19	0.19

又第2表に示した7種の溶媒を用いてアデニール酸標準品と共同展開する両者の Rf 値は一致し，又混合展開によつて得られるヌクレオチドのスポットは唯一つでその Rf 値はアデニール酸標準品の Rf 値に一致した。

第5表は本品とアデニール酸標準品の各種 pH 溶液中の吸収スペクトルを測定した結果を示すものであるが，吸収極大波長及び，250，260，280 mμ に於ける各吸光値の比は両者よく一致する結果を得た。

なお，アデニール酸標準品の 0.01 N 塩酸溶液について 260 mμ に於ける吸光値を測定し，これが1モルの結晶水を含むものとしてミリモル吸光係数を求めたところ 13.9 となつて文献値に一致したが，本品について同様ミリモル吸光係数を求めて，両者の吸光係数の比より本品の純度を計算して 94 %強となつた。

要　　約

1) ホタテ乾貝柱の加工に際して副産される貝柱煮熟液中の溶存アデニール酸についてペーパークロマトグラフィーを行い，初展開クロマトグラムから得た抽出液の紫外部吸収スペクトルと，同抽出液の再展開による Rf 値，呈色反応からその存在を定性的に確認した。

2) 貝柱煮熟残液中のアデニール酸をペーパークロマトグラフィーで分離定量して，液 1 l 当り 1 乃至 2 g のアデニール酸が溶存することを知つた。

3) 貝柱煮熟残液を活性炭処理し，吸着したアデニール酸を硫酸酸性エタノールで溶出したのち，分別沈澱法によつてアデニール酸を単離し，二三の性状について標準品との比較を行つた。

本研究を遂行するに当ってアデニール酸標準品を分譲し下さり，又光電光度計の使用に便宜を賜った大木製薬入戸工場に対し深堪の謝意を表する。

文　　献

1) 松岡義忠・伊古美文雄・鈴木義政 (1960). 日化総覧. **34**, 2863e.
2) 小松豊彦 (1960). 生化学. **32**, 351.
3) 吉川春泰・高橋泰常他編 (1960). 燐酸代謝実験法. [p. 122]. 東京; 広川書店.
4) Viser, E. & Cchargaff, E. (1948). *J. Biol. Chem.* **176**, 703, 715.
5) Partridge, S. M. (1949). *Nature* **164**, 443.
6) Bevenue, A. & Williams, K. T. (1951). *Arch. Biochem. Biophys.* **34**, 225.
7) Houghm, L., Jones, J. K. N. & Wadman, W. H. (1950). *J. Chem. Soc.* 1702.
8) Burrows, S., Grilis, F. S. M. & Harrison, J. S. (1952). *Nature* **170**, 800.
9) Bandurski, R. S. & Axelrod, B. (1951). *J. Biol. Chem.* **193**. 405.
10) Chargaff, E. & Davidson, J. N. (1955). *The Nucleic Acids* Vol. I. [p. 256]. New York; Academic Press.
11) 吉川春泰・高橋泰常他編 (1955). 燐酸代謝実験法. [p. 124]. 東京; 広川書店.
12) Chargaff, E. & Davidson, J. N. (1955). *The Nucleic Acids* Vol. I. [p. 262]. New York; Academic Press.
13) Chargaff, E. & Carter, C. E. (1951). *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 1516.
14) Chargaff, E. & Davidson, J. N. (1955). *The Nucleic Acids* Vol. I. [p. 513]. New York; Academic Press.

15) 新井健一 (1960a). 北大水産彙報 11, 67.
16) ――― (1960b). 同　誌 11, 225.
17) 吉川春泰・高橋泰常他編 (1958). 燐酸代謝実験法. [p. 196]. 東京; 広川書店.
19) Kerr, S. E. (1941). *J. Biol. Chem.* 139, 121.

STUDIES ON THE MELOBESIOIDEAE OF JAPAN. V

Tomitarô MASAKI and Jun TOKIDA
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

8. **Clathromorphum compactum** (Kjellman) Foslie

Pl. I, Figs. 1 & 2; Pl. II, Figs. 1-5; Pl. III

Foslie, 1898, p. 4; 1898*a*, p. 8; 1900*a*, p. 10; 1908, p. 11; 1929, p. 29, pl. 41, figs. 1-4; De Toni, 1905, p. 1726; Mason, 1953, p. 331, pl. 37, fig. c; Segawa, 1956, p. 70, pl. 40, fig. 309; Kawabata, 1959, p. 292.

Syn. *Lithothamnium compactum* Kjellman, 1883, p. 101, pl. 6, figs. 8-12; Foslie, 1895, p. 103, pl. 19, figs. 1-4; Lemoine, 1911, p. 98; Zinova, 1955, p. 78, fig. 67. *Phymatolithon compactum* (Kjellm.) Foslie, 1905, p. 88; Taylor, 1937, p. 260; 1957, p. 243. *Ph. compactum* f. *typicum* Foslie, 1905, p. 88.

Japanese name. Kita-ishimo (Segawa).

Habit and distribution, in literature. On rocks, stones and shells, and epiphytic on *Lithothamnium*, in sublittoral belt to 40 meters depth. Shirikishinai, Prov. Oshima, Hokkaido, and eastern coast of Hokkaido, Japan; Kurile Islands; Behring Sea; Alaska; northeastern coast of North America; Greenland; Ellesmere Island; Spitsbergen; Novaya Zemlya; Norway.

Specimens collected. On stones and shells, and epiphytic on *Lithothamnium lenormandii*. Akkeshi, Prov. Kushiro, Hokkaido, 5 November 1958, F. Iwata; 29 April 1960, H. Yamamoto; Erimo-misaki, 24 August 1961, T. Kaneko.

Thallus in the form of crusts firmly adherent to substratum, nearly orbicular in outline, 2-5 cm diam., often overgrowing one another in old specimens, surface usually smooth and plain, but sometimes more or less uneven owing to the shape of substratum, upheaved at border lines of confluent individuals, surface becoming coarse in the greater part of old crusts, being provided with numerous minute concave holes visible to the naked eye, especially in tetrasporic individuals which have a honeycomb-like appearance under a magnifying glass after the spores have been liberated; single crust 1-1.5 mm thick in tetrasporic, 0.5-0.7 mm thick in female, and 0.3-0.7 mm thick in male individuals; hypothallium poorly developed, consisting of 1-5 layers of cells which are elongated parallel to substratum, 12-43 μ long by 5-9 μ diam.; perithallium abruptly arising from hypothallium, cells rectangular, 5-11 μ long by 5-12 μ diam., often shorter than diameter; cell-fusion frequently occurring between adjacent cell-rows; epithallium conspicuous, consisting of 3-8 layers of subquadrate cells which are 5 μ in diam.; sporangial conceptacles crowded, immersed, subspherical or elliptical in section, 190-313 μ

diam., 168-230 μ high, roof 42–63 μ thick, nearly flat or slightly elevated on surface, but at maturity becoming sunken as a result of decortication, intersected by 10-20 muciferous canals; sporangia tetrasporic, 92–147 μ long, 42–80 μ diam., four sporangia standing in section on the central part of floor in each conceptacle; procarpic conceptacles flat, 84–105 μ high, 126–168 μ diam., carpogonial branches and their supporting cells stained deeply with haematoxylin and anilin blue; cystocarpic conceptacles flat, 168–230 μ high, 210-292 μ diam., ostiole narrow, fusion-cell discontinuous in section, supporting cell of carpogonial branch fused or not after fertilization with fusion-cell, carpospores arising from periphery of fusion-cell; spermatangial conceptacles flat, 55-70 μ high, (126-) 168–230 μ diam., roof 25–34 μ thick, orifice narrow and short without a spout, spermatangia globular, 2 μ diam.

Foslie established *Clathromorphum* in 1898, but in 1905 he reduced it to the rank of subgenus in *Phymatolithon* because its sporangia appeared to have a close resemblance to those of the latter genus. However, in 1908 he treated *Clathromorphum* as a genus again. Lemoine (1911) pointed out that there was no difference between *Clathromorphum* and *Lithothamnium* so far as the number of muciferous canals and the form of sporangial conceptacles were concerned.

Procarpic, cystocarpic and spermatangial plants have been unknown to this genus to date. The writers fortunately could observe all of them besides the hitherto known sporangial plants in the specimens referable to the present species collected at Akkeshi on November 5, 1958, by Dr. Fumio Iwata of the Faculty of Science, Hokkaido University, to whom the writers are much obliged for his kindness in sending the specimens to them. The sexual conceptacles of these specimens have been proved to show characters different from those of *Phymatolithon polymorphum*, the type of the genus. The spermatangia in *Phymatolithon* and *Lithothamnium* are produced in dendroid clusters (cf. Suneson, 1943, fig. 11) while those of the specimens under consideration are of simple type as shown in Pl. III, Fig. 7. The procarpic and cystocarpic conceptacles of the writers' specimens have a strong resemblance to those of *Polyporolithon reclinatum* (cf. Masaki & Tokida, 1961) and *Mesophyllum lichenoides* rather than those of *Phymatolithon polymorphum*. From these facts, the writers conclude that the validity of recognition of *Clathromorphum* as an independent genus is now more fully established.

Of the three species enumerated by Mason (1953) under *Clathromorphum*, *C. compactum* is that to which the writers' specimens are referable as learnt from the above description. However, as compared with the descriptions of the species given by previous authors, the writers' specimens do not exactly coincide with

them in that they have a somewhat thinner single crust, a slightly thicker epithallium, and the sporangia divided always into four spores. In Pl. III, Fig. 2 is shown the epithallium 5 6 layers of cells thick. The stipple in this figure indicates the cell-cavities of the epithallium cells faintly stained with haematoxylin and anilin blue, while the dark shading shows the terminal cells of the perithallium cell-rows deeply colored with the same stains.

Clathromorphum is characterized as having a deeply sunken, concave roof in mature sporangial conceptacles. The roof which is at first nearly flat or slightly elevated becomes concave as a result of decortication, as shown in Pl. III, Fig. 4 and in Pl. III, Fig. 3 at early and final stages respectively.

9. **Lithothamnium lenormandii** (Areschoug) Foslie

Pl. I, Figs. 3–5; Pl. II, Figs. 6–9; Pl. IV

Zinova, 1955, p. 83, fig. 72; Dawson, 1960, p. 20, pl. 11, fiigs. 4–6, pl. 14, fig. 2. *Lithothamnium lenormandi* (Aresch.) Foslie, 1895, p. 150; 1895 *a*, p. 178; 1905, p. 12; 1929, p. 43, pl. 3, figs. 14–20; Heydrich, 1897, p. 53; 1897 *a*, p. 413; 1900, p. 78, pl. 2, figs. 23–25; De Toni, 1905, p. 1756; 1924, p. 620; Lemoine, 1911, p. 81; Rosenvinge, 1917, p. 216, figs. 133–135; Suneson, 1943, p. 5, pl. 1, figs. 1–4, pl. 8, fig. 36, text-figs. 1–3; Hamel & Lemoine, 1953, p. 89, figs. 49–50, pl. 16, 17, 18, fig. 1; Taylor, 1937, p. 262; 1957, p. 245; Skottsberg, 1953, p. 554.

Syn. *Melobesia lenormandi* Areschoug, *in* J. Agardh, 1852, p. 514. *Lithophyllum lenormandi* (Aresch.) Rosanoff, 1866, p. 85, pl. 5, figs. 16 17, pl. 6, figs. 1–3, 5; Hauck, 1885, p. 267, pl 3, fig. 4.

Japanese name. Akkeshi-ishimo (n.n.).

Habit and distribution, in literature. On rocks, stones, shells of molluscs (e. g. *Littorina*, *Modiola*, *Mytilus* and *Trochus*), lime tubes of a worm (*Pomatoceros triqueter*), and other calcareous algae. From tide-pools and lower sublittoral to 14 36 meters. Pacific and Atlantic coasts of North America; Pacific coast of Mexico; Iceland; Faeroes; British Isles; Norway; Sweden; Denmark; Germany; France; Australia; Mediterranean; Adriatic; Arctic; Antarctic.

Specimens collected. On stones and pebbles. Akkeshi, Hokkaido, 29 May 1960, H. Yamamoto.

Thallus in the form of firmly adherent thin crusts, 100–200 μ thick, 2–5 cm diam., confluent with each other, surface smooth but microscopically rough, peripheral portion forming rounded, zonate lobes with whitish margins; hypothallium 40 85 μ thick, consisting of 5 8 layers of cells, cells rectangular, 12 25 (34) μ long, 7 12 μ diam.; perithallium arising abruptly from hypothallium, cells subspherical and 9 μ diam., or subrectangular to elliptical or ovoid and 7 12 μ long by 4 7 μ

diam., coalescence of cells occurs; epithallium consisting of 1–2 layers of cells, cells rectangular, 4 μ high by 9 μ diam.; sporangial conceptacles crowded, depressed-hemispherical, often subprominent with floor at the same level as the crust surface, but sometimes immersed, 200–350 μ diam., 84–160 μ high, roof 21–42 μ thick, perforated by numerous muciferous canals up to 80 in number, ultimately decorticate, leaving a large depression visible from surface (Pl. I, Fig. 4), sporangia quadrinucleate before division, producing usually binucleate bispores or rarely also tetraspores, both kinds of spores produced in one and the same conceptacle, bi- and tetrasporangia of similar size, 80–145 μ long, 20–75 μ diam.; procarpic conceptacles hemispherical to subconical, 100–190 μ in inner diam., ca. 170 μ high, roof about 50 μ thick, cystocarpic conceptacles hemispherical to subconical, 190–380 μ in inner diam., 125–230 μ high, roof 42–63 μ thick, carpospores arising from the whole surface of the conceptacle floor, no fusion-cell developed after fertilization, ripe carpospores 97–105 μ long, 30–55 μ diam.; spermatangial conceptacles subhemispherical or subconical, 105–210 μ in inner diam., 63–105 μ high, roof ca. 42 μ thick, spermatangia globular, 3 μ diam., produced on dendroid systems of filaments developed from the whole inner surface of conceptacle; dioecious.

The writers' specimens from Akkeshi here described are in general referable to the present species which is widely distributed in the world but not reported to date from Japan. However, as compared with the descriptions of this species given by previous authors, the writers' specimens show some differences in certain respects, namely in rather smaller size of the sexual conceptacles, in larger number of pores* in the roof of a sporangial conceptacle, and in the production of usually binucleate bispores or rarely also tetraspores in one and the same conceptacle instead of producing generally tetraspores but also uninucleate bispores in different crusts (cf. Suneson, 1943, p. 6, fig. 2 B). The spermatangia in this species are described by Suneson (1943, p. 7) as being produced in dendroid clusters developed only from the bottom of the conceptacle, while those of the writers' specimens in dendroid clusters developed not only from the bottom of the conceptacle but also from the inside of its roof (Pl. IV, Fig. 8). In Pl. II, Fig. 7 is shown a section of a crust bearing both male and female conceptacles. However, there can be seen a clear boundary of tissues beneath the female conceptacle disclosing the fact that such an apparent monoecious crust is no other than a product of overlapping growth of two crusts differing in sex from each other.

Summary

1. In this paper are described and illustrated the following two crustaceous

* 45–50 in smaller conceptacles but up to 80 or more in larger ones.

corallines collected at Akkeshi, Prov. Kushiro, Hokkaido.

2. *Clathromorphum compactum* (Kjellm.) Foslie is not new to Hokkaido, but sexual reproductive organs are described herein for the first time not only in this species but also in this genus.

3. *Lithothamnium lenormandii* (Aresch.) Foslie is reported herein to be new to Japan, though there are some differences between the characters of the writers' specimens and the descriptions of the species given by previous authors.

Literature

Agardh, J.G. (1852). *Species genera et ordines algarum.* Vol. 2, part 2(2), 505-720. Lund.

Dawson, E.Y. (1960). Marine red algae of Pacific Mexico. Part 3. Cryptonemiales, Corallinaceae subf. Melobesioideae. *Pacific Naturalist*, 2(1), 1-125, pls. 1-50.

Foslie, M. (1895). The Norwegian forms of Lithothamnion. *K. Norske Vidensk. Selsk. Skr.* 1894, 29-208 (1-108 in reprint), 23 pls.

——— (1895*a*). New or critical Lithothamnia. *Ibid.* 1894 (2), 1-10, 1 pl.

——— (1898). Systematical survey of the Lithothamnia. *Ibid.* 1898 (2), 1-7.

——— (1898*a*). List of species of the Lithothamnia. *Ibid.* 1898 (3), 1-11.

——— (1908). Algologiske Notiser V. *Ibid.* 1908 (7), 1-20.

Hamel, G. & Lemoine, M. (1953). Corallinacées de France et d'Afriqué du nord. *Arch. Mus. Nat. d'Hist. Nat.*, ser. 7, **1**, 17-136, 24 pls.

Heydrich, F. (1897). Corallinaceae, insbesondere Melobesieae. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 15, 34-70, text-figs. 1-3, pl. 3.

——— (1897*a*). Melobesiae. *Ibid.* 15, 403-420, pl. 18.

——— (1900). Die Lithothamnien von Helgoland. *Wiss. Meeresuntersuch. N. F.* 4 (Abt. Helgoland), 63-82, pl. 2.

Kawabata, S. (1959). A list of the marine algae in the vicinity of the Marine Laboratory for Biological Education, Hokkaido Gakugei University, situated at Shirikishinai village, Oshima province, in Hokkaido, I. *Mem. Hokkaido Gakugei Univ.* **10** (2), 285-296, figs. 1-2.

Kjellman, F.R. (1883). The algae of the Arctic Sea. *K. Svenska Vetensk.-Akad. Handl.* 20 (5), 350 p., 31 pls.

Lemoine, M. (1911). Structure anatomique des Mélobésiées. Application à la classification. *Ann. Inst. Océanogr.* 2 (2), 213 p., 105 figs., 5 pls., 3 folding tables.

Masaki, T. & Tokida, J. (1961). Studies on the Melobesioideae of Japan. IV. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **11** (4), 188-189, pls. 1-4.

Skottsberg, C. (1953). On two collections of Antarctic marine algae. *Ark. f. Bot., Ser. 2,* 2 (7), 531-566, 23 figs., 1 pl.

Zinova, A.D. (1955). *Rhodophyceae of Northern Seas in USSR.* 219 p., 169 figs. Moscow. (In Russian).

(For further references: see the preceding reports, I-IV)

EXPLANATION OF PLATES

PLATE I

Clathromorphum compactum (Kjellman) Foslie

Fig. 1. Habit of plant ×1

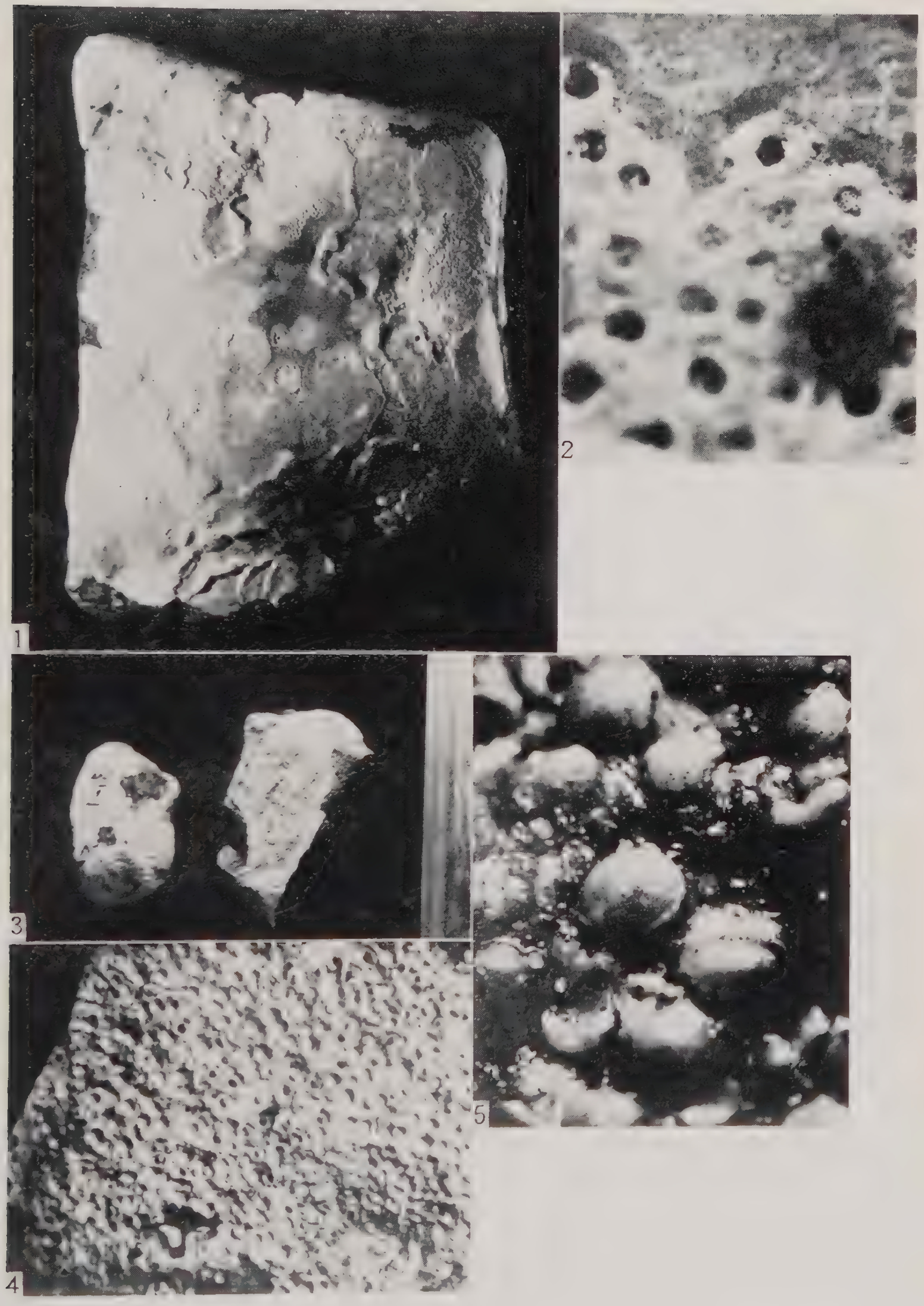
Fig. 2. Surface detail of a sporangial plant showing conceptacles and muciferous canals visible on the conceptacle roof as minute black dots ×50

Lithothamnium lenormandii (Areschoug) Foslie

Fig. 3. Habit of plant ×0.7

Fig. 4. Surface detail of a sporangial plant ×3.5

Fig. 5. Detail of the surface showing hemispherical tetrasporangial conceptacles and muciferous canals visible in the shade of the conceptacle roof as minute black dots ×50



T. Masaki & J. Tokida: Studies on the Melobesioideae of Japan. V

PLATE II

Clathromorphum compactum (Kjellman) Foslie

Photomicrographs of vertical sections of plant

Fig. 1. Tetrasporangial crust ×44

Fig. 2. Emptied tetrasporangia with a decorticated concave roof ×72

Fig. 3. Spermatangial crust ×72

Fig. 4. Procarpic crust ×72

Fig. 5. Cystocarpic crust ×72

Lithothamnium lenormandii (Areschoug) Foslie

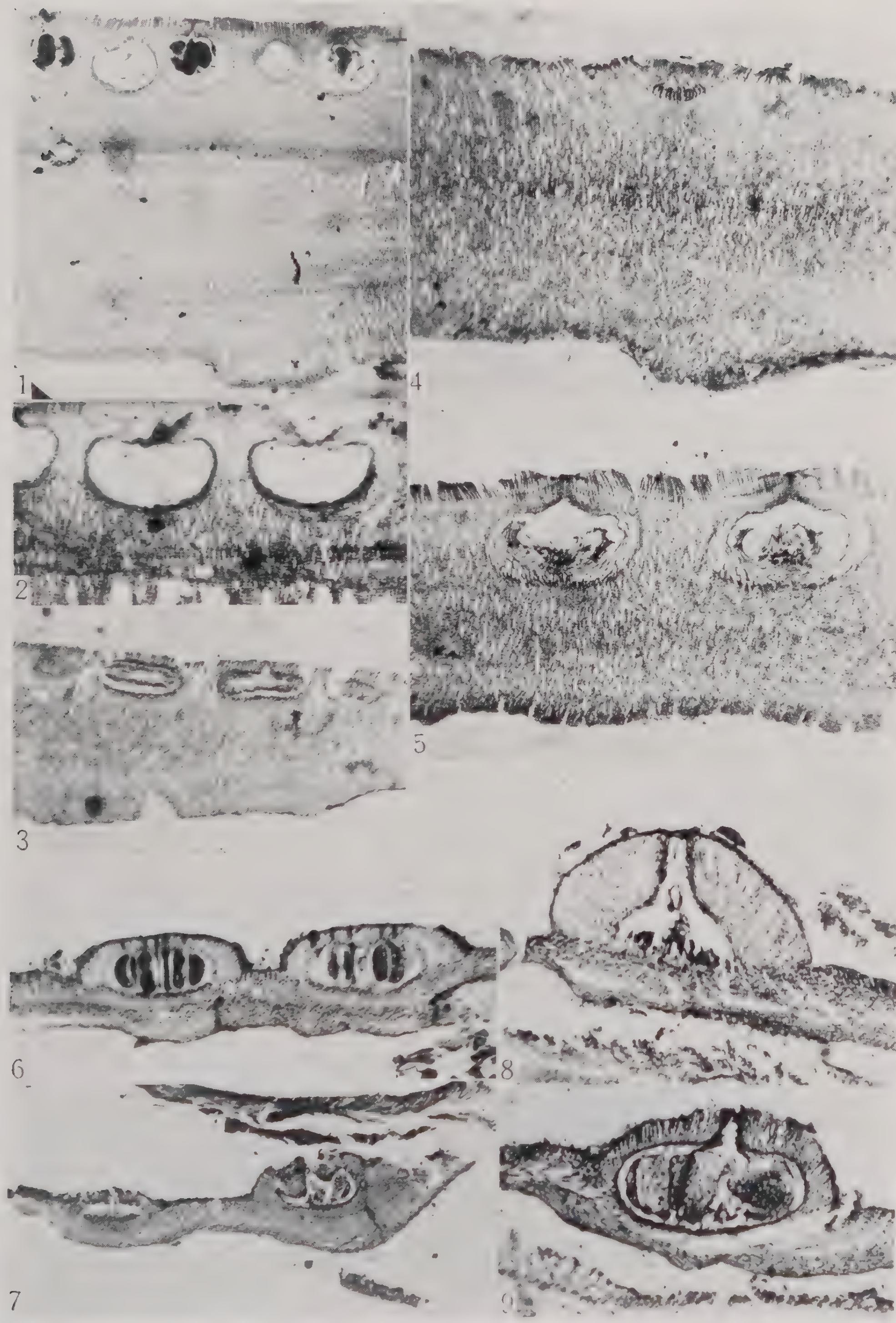
Photomicrographs of vertical sections of plant

Fig. 6. Tetrasporangial crust ×72

Fig. 7. Apparently monoecious crust with spermatangial and cystocarpic conceptacles ×44

Fig. 8. Procarpic conceptacle ×104

Fig. 9. Cystocarpic conceptacle ×104



T. Masaki & J. Tokida: Studies on the Melobesioideae of Japan. V

PLATE III

Clathromorphum compactum (Kjellman) Foslie

Fig. 1. Part of vertical section through hypothallium and perithallium

Fig. 2. Part of vertical section through perithallium and epithallium

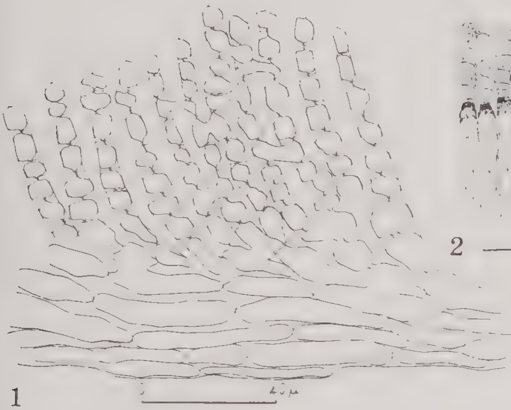
Fig. 3. Tetrasporangial conceptacle with the decorticated roof

Fig. 4. Tetrasporangial conceptacle in an early process of decortication

Fig. 5. Procarpic conceptacle

Fig. 6. Cystocarpic conceptacle

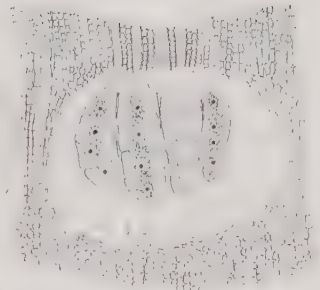
Fig. 7. Spermatangial conceptacle



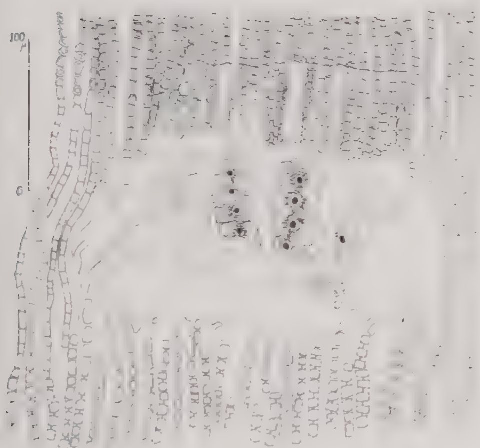
1



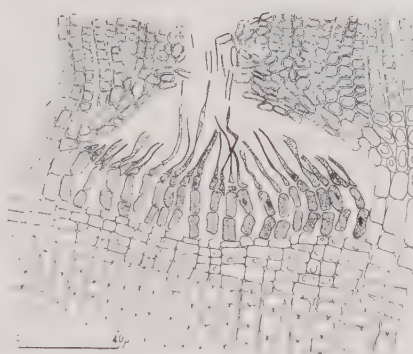
2



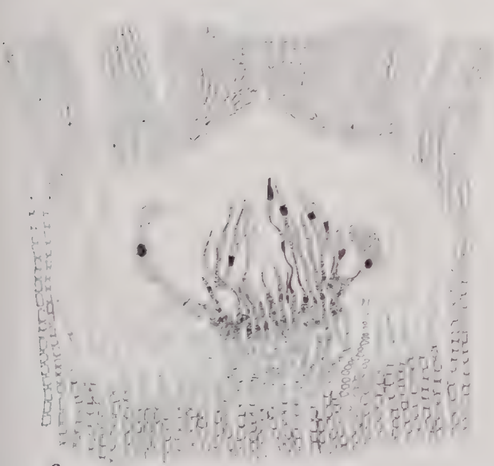
3



4



5



6



7

T. Masaki & J. Tokida : Studies on the Melobesioideae of Japan. V

PLATE IV

Lithothamnium lenormandii (Areschoug) Foslie

Fig. 1. Vertical section through marginal portion of a crust

Fig. 2. & 3. Vertical section through vegetative part of a crust

Fig. 4. Sporangial conceptacle with binucleate bispores

Fig. 5. Sporangial conceptacle with two still undivided tetranucleate sporangia, six bisporangia and a young tetrasporangium in an early stage of the second cell division

Fig. 6. Procarpic conceptacle

Fig. 7. Cystocarpic conceptacle

Fig. 8. Spermatangial conceptacle with dendroid clusters developed from both the bottom of conceptacle and the inside of conceptacle roof

Fig. 9. Spermatangial conceptacle with dendroid clusters developed from the bottom of conceptacle

PLATE IV



T. Masaki & J. Tokida: Studies on the Melobesioideae of Japan. V

THE EFFECTS OF HYPOPHYSECTOMY ON THE OVARY OF THE GOLDFISH, *CARASSIUS AURATUS*

Fumio YAMAZAKI
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

Introduction

It is known with certainty that the pituitary of teleosts secretes gonadotrophic materials and that it plays very important roles in the reproduction of fishes. This fact was demonstrated by injection, implantation and oblation experiments, further by morphological changes of pituitaries correlated with annual breeding.

In the investigations of the functions of secretary glands, it is very important to examine the changes of target organs after the removal of the glands. Hypophysectomy itself has been carried out in many kinds of fishes for the purpose of studies on the pituitary function. Matthews (1933), Osborn (1941), Fries (1943) and others approached the problems of the chromatophore-control of fish pituitary by means of hypophysectomy.

Making use of the same method, Matthews (1939), Burger (1941) and Pickford (1953) studied the functions of the pituitary responsible for spermatogenesis in Fundulus. Vivien (1938, 1941) has also made the same studies using gobiid fish as material. All the findings agree to show that the removal of the pituitary in the male fish results in the regression of testes and that spermatogenesis is inhibited.

On the other hand, the effects of hypophysectomy on ovaries have been studied by only a few researchers such as Vivien (1939, 1941) resulting in finding that all large oocytes undergo atresia while small ones remain unchanged.

The aim of the present study is to find the most suitable method for the removal of the pituitary and further to examine the pituitary factors affecting the ovary in the goldfish, *Carassius auratus*.

Before going further, the writer wishes to express his sincere thanks to Professor Kiichiro Yamamoto of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, for his kind guidance and encouragement in the course of the present study and for his help in improvement of the manuscript. Thanks are likewise offered to Assistant Professor Tatsuro Kubo and Mr. K. Takano for much help in the course of the present study. The writer is indebted to Mr. K. Iino for his assistance in preparing various instruments.

Material and Methods

Materials used in the present study were the goldfish, *Carassius auratus*. They were cultured in a large outdoor pond until needed. The fish which were utilized were 6.2 to 15.5 cm in body length as measured from the tip of the snout to the base of the tail. In 1959 one hundred and three fish were operated on for the determination of the most suitable method and in 1960 twenty-six females completely hypophysectomized were obtained by the method of opercular approach. Operated fish were kept in wooden aquaria of $70\times107\times30$ cm and small outdoor ponds of $160\times130\times45$ cm in size. They were fed with earth worms. The water of these wooden aquaria and ponds was changed with dechlorinated tap water. At fixation, records were made of body length, body weight and gonad weight in all controls and operated fish. The gonads were preserved for histological study with Bouin's solution and the heads were fixed in Bouin's solution to examine by means of dissecting and sectioning whether they were completely or incompletely hypophysectomized.

Sectioning was performed by the usual paraffin method. The ovaries were cut at 10 microns and stained with Delafield's hematoxylin-eosin, Heidenhain's iron hematoxylin-light green and Heidenhain's azan modification of Mallory's triple stain (Dawson & Friedgood, 1938). The pituitary regions were also cut at 10 microns; they were stained by the method of Dawson and Friedgood (1938). This method gave satisfactory results for identification of gross component of the pituitary.

Technique of Hypophysectomy

In the present study the gular and the opercular approaches were used as the methods of hypophysectomy. The two methods were compared to determine which was better.

1. *The gular approach to the pituitary*

This method has been employed by Matthews (1933, 1939) in the killifish, *Fundulus heteroclitus*, Parker (1934) in the catfish, *Ameiurus nebulosus* and Chavin (1956) in the goldfish, *Carassius auratus*. However, detailed points in the procedures are different as practised by different operators.

The procedures in this experiment were as follows:

The goldfish was anaesthetized by cooling with cold water for more than 15 minutes, the water temperature was about 2°C in February, 6.5°C in August and

3 C in November. After anaesthesia the animal was placed upside down in the groove of the operation board which had a drainage hole, wrapped with wet cloth coated with absorbent cotton, and fixed to the board with an elastic band. During the operation the low temperature was maintained by placing cracked ice around the animal.

For lighting, a 100-watt electric lamp was used. The light was concentrated and cooled by filtering through a round flask which contained cupric ammonium solution. To light the operating place, an oculist's reflector was used. Then the gular membrane of the left side was cut with a scalpel from the lower lip along the tongue. This incision was kept open about 5-8 mm by means of pins attached to a rubber band from both sides. After exposure of the oral cavity, a 3 mm square portion of mucous membrane of the roof of the mouth was cut with a pair of small manicure scissors and carefully removed from the roof by means of modified dental forceps. Then the parasphenoid bone was rendered visible in the opening. At the median portion of the parasphenoid bone, there are two small processes at which the bone bends towards the vomer. The bone was punctured at this portion about 1.5 mm in depth with a trepan of 1.5 or 2 mm diameter. The flowing blood was washed out with cooled Ringer's solution. Through this opening the presence of the pituitary was recognizable, because of its milky colour. The pituitary gland was sucked out with a fine pipette connected to an inspirator. The removed mucous membrane was replaced over the aperture, and the wound was closed with one suture. The operated animal was placed in 0.2 per cent cooled saline water (4 C～6 C) composed of equal parts of sodium chloride and calcium chloride for 24 hours following the procedure of Chavin (1956). The temperature of the water was gradually raised to room temperature. Then the fish was placed in dechlorinated tap water for 2-5 days. The water was changed every day. During this period the suture was taken off and the operated animal was transferred to a wooden aquarium.

2. *The opercular approach to the pituitary*

For this operation, an operating board was designed, which had a shallow groove and a pole to hold rubber bands connected with hooked pins. The fish were anaesthetized by cooling as in the previous method. After anaesthesia they were placed sideways on the operating board and fixed to the board in the same way as in the gular approach. The low temperature was maintained by placing chipped ice near the fish.

The operculum and first gill arch were pulled forward by the hooked pins connected with rubber bands to expose the roof of the mouth. Through this

opening an incision was made with Lapersonn's dissection knife. In this way the prootic bone became visible and under bright light the pituitary gland also could be seen through the bone. The place of incision was washed and cleaned with Ringer's solution. The prootic bone was drilled with a dental burr No. 3, 4, or 5 according to the size of the animals. The pituitary, thus exposed, was sucked out with a pipette. The operated fish were placed for 24 hours in cooled saline water, whose temperature was about 5~8°C at the time when the fish were immersed. The temperature of this cooled saline water was gradually raised to room temperature. The animals were removed to dechlorinated running tap water and kept in it for 2–7 days until they had recoverd. Then they were transferred to a wooden aquarium.

Results

(1) *Comparison between the gular and the opercular approach methods of hypophysectomy*

One hundred and three fish were operated on, 51 of them by the gular approach and the others by the opercular approach. In the case of the gular approach, the parasphenoid bone is comparatively thick so that it is not easy to find the pituitary through the small drilled aperture. Accordingly more than 15 minutes were required for the operation. With the opercular approach, on the contrary, the prootic bone is thin and the pituitary is easily visible through it. Therefore the operation can be finished in 5–6 minutes. The results obtained from these two methods are summarized in Table 1.

Table 1. Results obtained from the gular and the opercular approach methods in present hypophysectomies

Method	No. of operated fish	Fish died within one week		Incomplete H. sectomy		Complete H. sectomy	
		No. of fish	%	No. of fish	%	No. of fish	%
Gular approach	51	26	51.0	18	35.3	7	13.7
Opercular approach	52	9	17.3	17	32.7	26	50.0

In the gular approach 51 per cent of the fish operated on died within one week after operation, while only 17.3 per cent of the fish died as the result of the opercular approach during the same period. The number of fish incompletely hypophysectomized was almost equal under the two methods. From the results it is reasonably concluded that the opercular approach is more suitable than the

gular approach for the removal of the pituitary in the goldfish.

(2) *The effects of "mock operations" of the pituitary on the reproductive system*

The pituitary is located below the floor of the brain tissue and is surrounded by many nerves. In order to ascertain the influence of hypophysectomy, therefore, an examination of the effects of a "mock operation" on the reproductive organs is indispensable. With this idea in mind, "mock operations" which exposed the pituitary but left it intact were done.

Four fish were operated on by the gular approach on January 12th and 14th 1959 (Table 2). One of them was a female; it spawned in June with a normal male. The other operated males showed normal sexual behaviour in April and May. The gonosomatic index (gonad weight ×100/body weight) of the female was 7.5 at the date killed on June 20. Microscopical observations showed no discernible difference between the ovary of this female and those of intact females.

The second experiment was made from April to August by the opercular appoach using 18 female fish (Table 2). After the operation, they were cultured until they were killed according to the days recorded in Table 2. All of their gonads were normal (Figs. 1. 2 and 3) except those of 2 fish which showed some regressive features of ovaries (Table 2). Most of the fish had ovaries as large as normal fish in the breeding season (Figs. 2, 3), while a few yielded somewhat smaller ovaries without any sign of regression. From these experiments it was made clear that the "mock operation" had no discernible effect on the gonad.

(3) *General behaviour and colour change in hypophysectomized goldfish*

After being kept in cold saline water the fish operated on usually recovered quickly, whereas those which did not become completely well within about six hours usually died within one week after the operation.

The hypophysectomized goldfish showed normal behaviour in swimming and they fed well. They grouped themselves and responded to outer stimuli the same as non-operated fish. The body colour was the external criterion between the hypophysectomized and non-operated fish. The hypophysectomized goldfish lost their characteristic red colour and become pale or cream white. This change appeared at first on the abdominal side and gradually became visible over the entire animal. The velocity of the change of body colour varied with the season. In the animals operated on in July and August, the change spread over their bodies in about two weeks, while in those operated on in October the change

covered the animals in about two months or more. This time lapse seems closely connected with the water temperature of the aquarium. The mean water temperature of the aquarium was 24.2°C in August and 6.8°C in November.

(4) *Effects of hypophysectomy on the ovary*

Incompletely hypophysectomized fish with some remnants of pituitaries were all disregarded in gathering material for the present paper. Thirty-nine females which were completely hypophysectomized and healthy were obtained from the operation in 1959 and 1960.

I. *Effects on mature and maturing ovaries*

The fish with maturing yolk-laden oocytes are usually found from October to the following July (Yamamoto & Yamazaki 1961). In the present study, therefore, hypophysectomy was performed in two separate periods from April to July and from October to November (Table 2). In the former period, the fish yielded the ovaries of the secondary maturing and of the ripe stages,* whilst in the latter period they yielded the ovaries of the primary maturing stage*.

In general, hypophysectomy proved to exert conspicuous effects on mature or maturing ovaries. In the fish operated on in the former period, oocytes in the ovaries suffered atresia with the passing of time. Along with this internal change, the ovaries gradually became soft and decreased in size and weight. The atretic processes did not occur simultaneously in all oocytes. The oocytes in the late yolk vesicle stage, the primary and secondary yolk stages became atretic at first while those in the tertiary yolk stage remained unchanged for some time (Figs. 7, 8, 9 and 10) but finally showed atresia (Fig. 11). Yolk-less oocytes found numerously in the ovaries seemed not to be affected by any atretic change and remained intact during that time (Fig. 11). In the fish kept for a long time after hypophysectomy, therefore, the ovaries became very small, and they contained many oocytes without yolk and a few with yolk vesicles. As will be stated below, however, the velocity of the atretic events was not the same throughout the period, but it differed by months.

The fish operated on in the latter period reacted to the operation in the same way. Oocytes in the ovaries became atretic following the order found in the former, that is, oocytes in the primary yolk stage and the late yolk vesicle stage began to degenerate at first (Figs. 13, 15) and then those of the early yolk vesicle stage (Fig. 14). In the same way as in the former periods, oocytes without

* Cf. Yamamoto & Yamazaki (1961).

yolks remained intact during that time.

The above data shows that hypophysectomy yields effects on all oocytes laden with yolk, resulting in the induction of atresia, first in lightly yolk-laden oocytes and then in heavily yolk-laden ones, but it induces no atretic changes in yolkless oocytes.

II. *Histogenesis of maturing oocytes undergoing atresia after hypophysectomy*

Atretic changes in the oocytes of the yolk stages began in their peripheral region where yolk vesicles were melted and sometimes made a colloidal mass (Fig. 7). This colloidal mass was not stained with hematoxylin but stained with Mallory azan stain in blue. Granulosa cells were hypertrophied. The zona radiata was broken into fragments. At the next step, yolk globules were also melted from the peripheral region and they seemed to be gradually absorbed by the granulosa cells. The nucleus of the oocytes disappeared from sight. The granulosa cells of which the nuclei were located near the oolema appeared to invade gradually into the oocytes. The oocytes became weak in stainability and irregular in shape (Figs. 9, 10, 11 and 13).

In the oocytes of the yolk vesicle stage, a characteristic change was frequently observed, that is, one pole of the oocytes was filled with cytoplasm and the other pole with many yolk vesicles. The nucleus of the oocytes was invisible (Fig. 15). Then the yolk vesicles seemed gradually to melt (Fig. 15). There were found some atretic oocytes presenting an appearance like empty follicles, and those which were invaded by many cells (Fig. 16).

From these findings it is clear that the morphological changes of atretic oocytes after hypophysectomy resemble those found in spent ovaries after spawning (Fig. 12, Yamamoto & Yamazaki 1961).

III. *Seasonal difference in the effects of hypophysectomy*

Seasonal differences are summarized in Table 2. In the table the alphabet is used as the atretic index: A represents ovaries containing zero to five atretic oocytes out of 100 oocytes counted under the microscope; B, 5 15 per 100; C, 15 25 per 100; D, 25 35 per 100; E, more than 35 per 100. All fish operated on in July were kept in an indoor pond at the water temperature of about 14 C, because water temperature in outdoor ponds was so high that the fish were debilitated. In April and May, the atretic change was recognized in the ovaries of the fish cultured more than 3 weeks after the operation and in June it could be

Table 2. Atretic index of hypophysectomized fish and "mock control." For explanation see text

"Mock control"				Hypophysectomized fish			
Date of operation	Days lived after operation	Atretic index	B. L. (cm)	Date of operation	Days lived after operation	Atretic index	B. L. (cm)
Jan. 12	101	♂	8.2	Apr. 15	14	A	10.1
Jan. 12	159	A	8.9	Apr. 15	28	B	10.7
Jan. 14	102	♂	9.0	Apr. 15	42	A	10.0
Jan. 14	119	♂	7.3	Apr. 22	21	B	9.4
Apr. 15	14	A	11.5	May 6	7	A	9.1
Apr. 15	28	A	9.0	May 6	14	A	9.3
Apr. 15	42	B	13.5	May 8	14	A	10.3
				May 6	21	B	9.5
May 6	28	A	11.7	May 6	42	D	9.2
May 6	56	A	10.4	May 6	56	E	11.1
				Jun. 6	14	B	10.1
Jun. 6	28	A	9.8	Jun. 6	28	D	11.1
Jun. 6	59	B	10.6	Jun. 6	35	B	10.8
				Jun. 27	7	B	15.5
				Jul. 7	28	C	10.4
				Jul. 7	43	E	10.3
				Jul. 7	44	C	10.5
Jul. 7	70	A	10.7	Jul. 7	70	D	11.0
				Oct. 2	7	A	8.7
Jul. 23	36	A	7.1	Oct. 2	28	A	9.3
Jul. 23	36	A	7.1	Oct. 2	28	B	8.9
Jul. 23	36	A	7.2	Oct. 3	77	A	7.0
Jul. 23	36	A	7.9	Oct. 3	77	A	6.8
Jul. 23	36	A	6.2	Oct. 3	77	B	7.8
Jul. 23	36	A	7.6	Oct. 8	78	C	11.5
Aug. 5	9	A	8.8	Oct. 8	78	A	10.9
Aug. 5	16	A	6.8	Oct. 8	78	B	8.0
				Oct. 8	78	A	7.9
Aug. 5	36	A	9.8	Oct. 8	78	B	9.2
Aug. 2	64	A	7.2	Oct. 15	71	A	7.2
				Oct. 30	49	B	8.3
				Nov. 9	118	C	11.4

detected in the fish kept for 2 weeks after the operation. In the fish operated on in October, however, atretic indexes were A or B even after 11 weeks.

From the results of observation it is clear that hypophysectomy more quickly effected the ovaries of fish operated on in June and July than in October and November. This difference in month seems intimately connected with both the state of oocytes and the water temperature.

IV. *Effects on immature and recovering ovaries*

An immature fish was hypophysectomized in July of 1959 and kept for 26 days thereafter. She showed a marked difference from the control. In the former most oocytes in the ovary were yolk-less, while in the latter many oocytes

were laden with yolk vesicles. This suggests that hypophysectomy inhibits the formation of yolk in oocytes.

In order to test this supposition, a second series of experiments was carried out September 3 and 9 1960. By September the goldfish in our laboratory had almost completely absorbed the atretic oocytes corresponding to those above the yolk vesicle stage, so that the ovaries of all fish were ranked in the "recovering stage".

Table 3. Gonad weight of hypophysectomized immature fish and the controls

	Fish No.	Date of operation	Date killed	Days lived after operation	B. L. (cm)	Gonad weight
Hypophysectomy	1	Sep. 3	Sep. 30	27	7.8	0.3
	2	Sep. 3	Sep. 30	27	7.8	0.3
	3	Sep. 3	Sep. 30	27	7.8	0.4
	4	Sep. 9	Oct. 14	35	6.8	0.3
	5	Sep. 9	Oct. 28	49	8.5	0.2
	6	Sep. 9	Dec. 16	98	10.2	1.1
	7	Sep. 9	Dec. 16	98	6.7	0.1
"Mock" control	1	Sep. 9	Oct. 14	35	9.0	0.8
	2	Sep. 9	Oct. 28	49	9.3	0.7
Intact control	1		Sep. 13		7.8	0.3
	2		Oct. 2		8.8	0.6
	3		Oct. 27		8.9	0.8
	4		Oct. 27		9.0	1.7
	5		Dec. 26		9.4	3.4

Table 4. Percentage of atretic and normal oocytes found in the ovaries of the fish shown in Table 3

	Fish No.	No. of examined oocytes	Atretic oocytes	Percentage of atretic and normal oocytes at each stage						
				Peri-nucleolus stage		Yolk vesicle stage		Yolk stage		
				Early	Late	Early	Late	Primary	Secondary	Tertiary
Hypophysectomy	1	836	2.2	68.7	22.6	6.5				
	2	754	5.9	80.5	13.6					
	3	578	25.4	64.8	9.8					
	4	643	6.2	76.1	17.7					
	5	762	0.3	82.3	16.4	1.0				
	6	848	18.9	73.6	7.5					
	7	804	0	88.9	10.9	0.2				
"Mock" control	1	811	6.4	49.4	26.8	7.9	9.5			
	2	951	0.2	48.8	24.5	16.8	9.7			
Intact control	1	811	0.2	70.0	25.1	4.7				
	2	1011	0.2	72.0	19.0	6.9	1.9			
	3	805	0	62.1	17.1	10.1	10.7			
	4	660	0.2	38.4	22.1	18.6	13.5	5.8	1.0	0.4
	5	422	0	50.8	17.5	9.7	9.7	6.6	3.3	2.4

On September 13, one intact fish was sacrificed as the initial control. The control contained 4.7 per cent oocytes of the early yolk vesicle stage and 95.1 per cent oocytes of yolk-less stage (Table 4, Fig. 17). Members of this intact control group gained in ovary weight with the passage of time (Table 3), along with the appearance of many oocytes in the yolk vesicle and the yolk stages (Table 4, Figs. 18, 19 and 20).

Two fish were subjected to "mock operation" on September 9 and sacrificed 35 and 49 days later (Table 3). In the ovaries of these two fish many oocytes in the yolk vesicle stage were found (Table 4, Fig. 19).

Compared with the controls, all hypophysectomized fish showed no increase in gonad weight (Table 3) and embraced only a few oocytes laden with yolk vesicles (Table 4, Figs. 16, 21, 22, 23 and 24). Moreover, they contained less oocytes in the late peri-nucleolus stage than mock and intact control fish (Table 4).

From these results it seems reasonable to say that hypophysectomy in goldfish depresses the growth of ovaries due to the failure of yolk formation in oocytes.

Discussion

Hypophysectomy has been carried out in many kinds of fishes. The methods may be grouped as follows:

1. Orbital approach (Smith, Burr & Ferguson, 1935)
2. Oral approach (Waring, 1940; Vivien, 1941; Osborn, 1941; Tavolga, 1955)
3. Gular approach (Matthews, 1933, 1939: Parker, 1934; Chavin, 1956)
4. Opercular approach (Abramowitz, 1937; Burger, 1941; Fries, 1943; Pickford, 1953; Burden, 1956)

The orbital approach designed by Smith, Burr & Ferguson (1935) has many technical difficulties, and so far it has given unfruitful results. The oral approach used by Waring (1940) on eel, by Osborn (1941) on catfish and by Vivien (1941) on gobiid fish seems unsuitable for goldfish, because the mouth of the goldfish is far too small as compared with that of the above fishes. The gular approach was used by Matthews (1939) in Fundulus, but he stated that the mortality was usually high. But Chavin (1956) removed the pituitary of small immature goldfish of 1-2 inch body length by means of the gular approach. He reported that the time necessary for the operation was 4-5 minutes and that the mortality after operation was less than 10 per cent. In the present experiment the gular approach was tried but resulted in only 13.7 per cent success.

On the other hand, the opercular approach recomended by Abramowitz (1937) and by Pickford & Atz (1957) was sucessful in 50.0 per cent of the present writer's 1959 trials. In 1960 better results were gained by this method. From these facts

the opercular approach seems most suitable for the removal of the pituitary in goldfish.

Anaesthesia by cooling with cold water as used by Parker (1934) and Abramowitz (1937) gave good results and was improved in the application by the addition of a small per cent of ethyl urethane (about 0.05%).

The present studies made clear that the water temperature necessary for the anaesthesia of the goldfish was about 6.5 C in summer and 2 C in autumn and winter. This seasonal change of resistance to the lower temperature in goldfish was elucidated by Hoar (1955).

"Mock operation" in the pituitary did not induce changes in body colour nor any effect on oogenesis. Therefore it is reasonable to judge that changes of body colour and regression of gonads induced by hypophysectomy are attributable to the lack of the pituitary.

The relationship between the pituitary and body colour in the goldfish has already been ascertained by Chavin (1956). He observed that after hypophysectomy the body colour of the goldfish was changed to pale or cream white and asserted that pituitary must be necessary for the maintenance of lipophores in goldfish. The results obtained in the present studies agree well with Chavin's observation viz., the hypophysectomized goldfish lose their characteristic red colour and become pale. Further, this colour change proved to be closely connected with the water temperature.

In mature or maturing ovaries, yolk-laden oocytes showed decisive effects of hypophysectomy. In the fish operated on in May, all oocytes with yolk were degenerated within six weeks after the operation except some oocytes in the tertiary yolk stage; eight weeks later those in the tertiary yolk stage had also become atretic, while no atretic change was detected in oocytes without yolks and they remained almost intact during the whole time. On the other hand, in the fish with immature or recovering ovaries, which were hypophysectomized in September, no oocytes grew beyond the late peri-nucleolus stage; they remained below 0.16 mm in diameter. These findings fit in with those of Vivien (1939, 1941) that larger oocytes degenerated and small ones failed to grow beyond about 60 microns in diameter. In mammals it is recognized that the follicle-stimulating hormone of the anterior pituitary affects the growing ovarian follicles after a critical stage, corresponding to the start of antrum formation (Bullough 1951, Simpson 1959). From the present study it is reasonable to say that the pituitary of goldfish stimulates yolk-less oocytes to grow into ripe eggs. Therefore, it may be reasonable to divide the growth of the oocyte into two phases, viz., the first in which there is no concern with the influence of pituitary hormones and

the second phase which is promoted by the presence of the pituitary gland. This is in accord with the views of Bullough (1951) and Ball (1960).

The sensitivity in oocytes to the lack of pituitary secretion was different in different stages. The oocytes in the late yolk vesicle stage and in the primary and the secondary yolk stages, were the highest in sensitivity whilst those in the tertiary yolk stage and the early yolk vesicle stage were the next. The formation of atresia found in the present study seems to be identical with the spontaneous atresia of yolk-laden oocytes which occurred in spent ovaries of this species (Beach 1959, Yamamoto & Yamazaki 1961). But the difference between the two cases lies in the velocity of this process. The degeneration and absorption of atretic oocytes in spent ovaries seems to proceed faster than in the ovaries of hypophysectomized fish. The effects of hypophysectomy differed with the season. The change proceeded more slowly in October and November than in June and July. This may be attributed to the differences of yolk deposition in oocytes and of temperature in the culture water.

Summary

1. The effects of hypophysectomy on the ovary of the goldfish have been studied.
2. The pituitary was removed by the opercular approach and the gular approach. The former was better than the latter.
3. "Mock operation" of the pituitary resulted in no effect upon the reproductive organs.
4. Change of body colour occurred in hypophysectomized fish.
5. Hypophysectomy affected yolk formation in oocytes. Those already laden with yolks tended to be deformed and became atretic, while yolk-less oocytes remained as they were intact without the formation of yolks.
6. The growth of oocytes may be divided into two phases, the first which is not concerned with pituitary hormones and the second promoted by the presence of pituitary secretion. The critical stage of the two phases is the early yolk vesicle stage.
7. Atretic changes after hypophysectomy were histologically like those of spontaneous atresia in spent ovaries.
8. The effects of hypophysectomy on the ovary varied according to season.

References

Abramowitz, A.A. (1937). The opercular approach to the pituitary. *Science* 85, 609.

Ball, J.N. (1960). Reproduction in female bony fishes. *Symp. zool. Soc. Lond.* (1), 105–135.

Beach, A.W. (1959). Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the goldfish. *Can. J. Zool.* **37**, 615-625.

Bullough, W.S. (1951). *Vertebrate sexual cycles.* 117 p. London; Methuen.

Burden, C.E. (1956). The failure of hypophysectomized *Fundulus heteroclitus* to survive in fresh water. *Biol. Bull.* **110**, 8-28.

Burger, J.W. (1941). Some experiments on the effects of hypophysectomy and pituitary implantations on the male *Fundulus heteroclitus. Biol. Bull.* **80**, 31-36.

Chavin, W. (1956). Pituitary-adrenal control of melanization in xanthic goldfish, *Carassius auratus* L. J. *Exp. Zool.* **133**, 1-45.

Dawson, A.B. & H.B. Friedgood. (1938). The differentiation of two classes of acidophiles in the anterior pituitary of the female rabbit and cat. *Stain Technology* **13**, 17-21.

Fries, E.F.B. (1943). Pituitary and nervous control of pigmentary effectors, especially xanthophores, in killifish (*Fundulus*). *Physiol. Zoöl.* **16**, 199-212.

Hoar. W.S. (1955). Seasonal variations in the resistance of goldfish to temperature. *Trans. Roy. Soc. Can. Ser.* **3**, **49**: 25-34.

Matthews, S.A. (1933). Color changes in *Fundulus* after hypophysectomy. *Biol. Bull.* **64**, 315-320.

——— (1939). The relationship between the pituitary gland and the gonads in *Fundulus. Biol. Bull.* **76**, 241-250.

Osborn, C.M. (1941). Studies on the growth of integumentary pigment in the lower vertebrates. II. The role of the hypophysis in melanogenesis in the common catfish (*Ameiurus melas*). *Biol. Bull.* 81, 352-363.

Parker, G.H. (1934). Color changes in the catfish *Ameiurus* in relation to neurohumors. *J. Exp. Zool.* **69**, 199-233.

Pickford, G.E. (1953). A study of the hypophysectomized male killifish, *Fundulus heteroclitus* (Linn.). *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.* **14** (2), 5-41.

Pickford, G.E. & J.W. Atz. (1957). *The physiology of the pituitary of fishes.* 613 p. New York; New York Zool. Soc.

Simpson, M.E. (1959). Rôle of anterior pituitary gonadotrophins in reproductive processes. In *Reproduction in domestic animals*, ed. H.H. Cole & P.T. Cupps, **1**, 59. New York; Academic Press. (Cited from Ball 1960).

Smith, G.M., H.S. Burr & R.S. Ferguson. (1935). A study of the effects of intermedin and injury of the hypophysis on traumatic corial melanophores in goldfishes. *Endocrinology* **19**, 409-412.

Tavolga, W.N. (1955). Effects of gonadectomy and hypophysectomy on prespawning behavior in males of the gobiid fish, *Bathygobius soporator. Physiol. Zoöl.* 28, 218-233.

Vivien, J.H. (1938). Sur les effets de l'hypophysectomie chez un téléostéen marin, *Gobius paganellus* L. C.R. Acad. *Sci., Paris* **207**, 1452-1455.

——— (1939). Rôle de l'hypophyse dans le déterminisme du cycle génital femelle d'un téléostéen, *Gobius paganellus* L. C.R. Acad. *Sci., Paris* **208**, 948-949.

Vivien, J.H. (1941). Contribution à l'étude de la physiologie hypophysaire dans ses relations avec l'appareil génital, la thyroïde et les corps suprarénaux chez les poissons sélaciens et téléostéens. *Bull. biol. Fr. Belg.* 75, 257-309. (Cited from Pickford & Atz 1957).

Waring, H. (1940). The chromatic behaviour of the eel (*Anguilla vulgaris L.*). *Proc. Roy. Soc., B*, 128, 343-353.

Yamamoto, K. & F. Yamazaki. (1961). Rhythm of development in the oocyte of the goldfish, *Carassius auratus*. *Bull. Fac. Hokkaido Univ.* 12 (2), 93-110.

Explanation of Plates

All figures are photomicrographs obtained from sections of ovaries of intact, "mock operated" and hypophysectomized goldfish. Fixed in Bouin's fluid and stained with Delafield's hematoxylin-eosin except Figs. 3, 6 and 19.

PLATE I

Fig. 1. Portion of the ovary from a fish twenty-eight days after "mock operation." Operated on April 15. ×31

Fig. 2. Ovarian portion from a "mock operation" fish operated on June 6 and sacrificed twenty-eight days later. ×31

Fig. 3. The same as above, from a fish sixty-four days after "mock operation." Operated on August 2. Heidenhain's azan modification of Mallory's triple stain. ×31

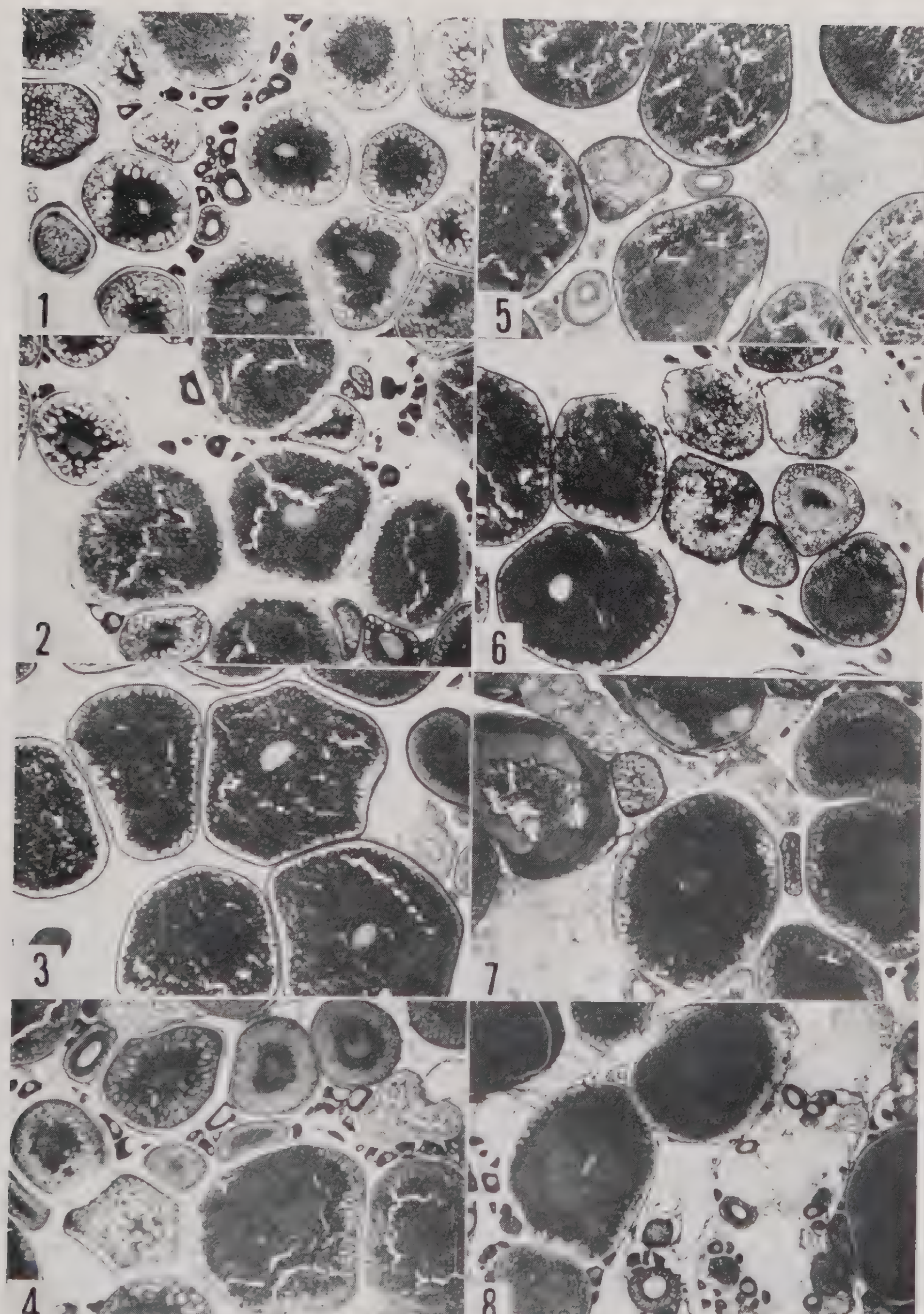
Fig. 4. Portion of the ovary from a fish forty-two days after hypophysectomy. Operated on April 15. ×31

Fig. 5. Ovarian portion from a fish hypophysectomized on June 6 and killed fourteen days later. ×31

Fig. 6. The same as above, from a fish seven days after hypophysectomy. Operated on June 27. Heidenhain's azan modification of Mallory's triple stain. ×29

Fig. 7. The same from a fish forty-two days after hypophysectomy. Operated on May 6. ×31

Fig. 8. The same from a fish forty-four days after hypophysectomy. Operated on July 7. ×29



F. YAMAZAKI: The effects of hypophysectomy on the ovary

PLATE II

Figs. 9, 10. Portions of the ovary from a fish hypophysectomized on June 6 and killed twenty-eight days later. Many atretic oocytes are visible together with healthy oocytes in the tertiary yolk stage and yolk-less stage. ×31

Fig. 11. Ovarian portion from a fish fifty-six days after hypophysectomy. Operated on May 6. Almost all oocytes laden with yolk are atretic but yolk-less oocytes remained unaffected. ×34

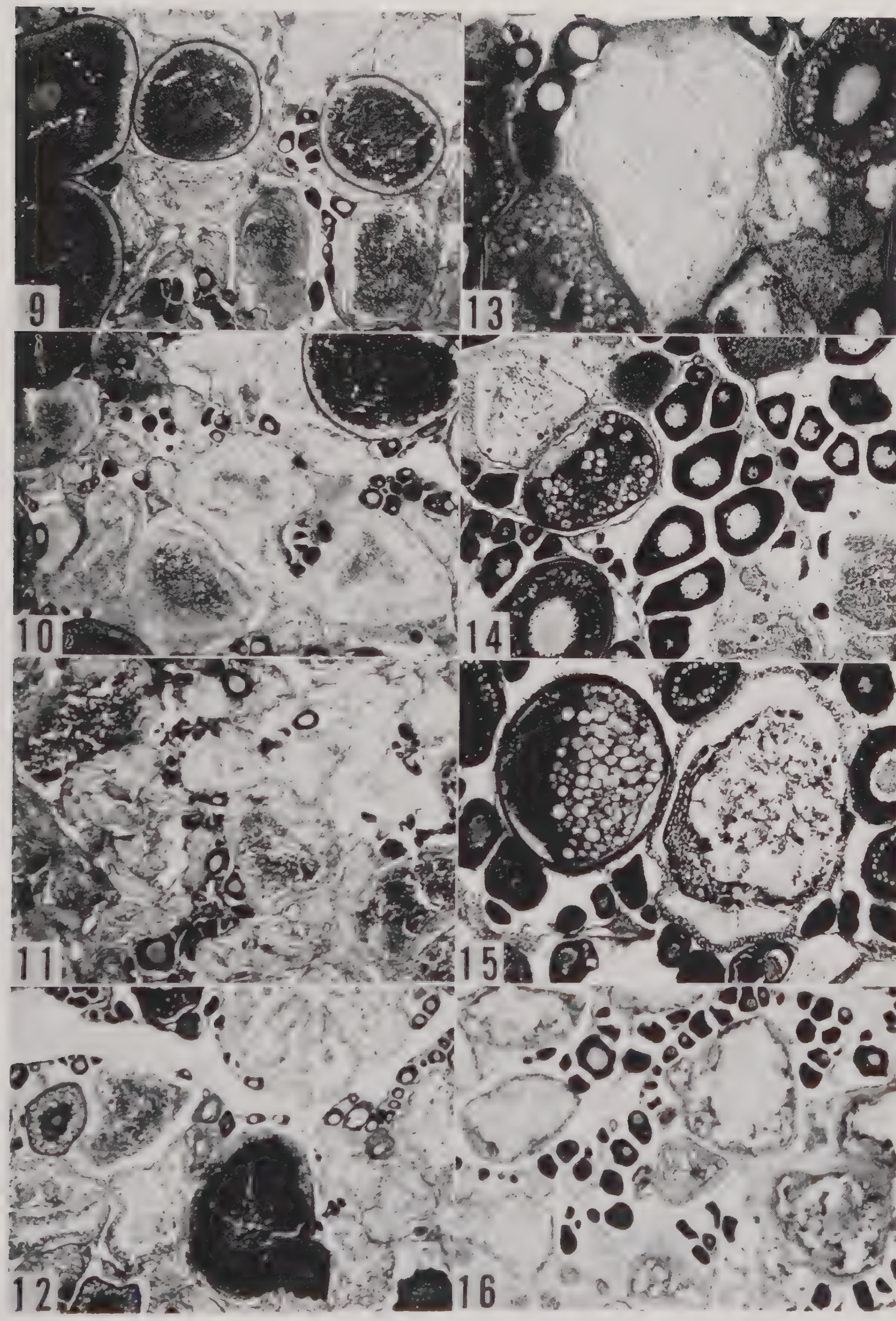
Fig. 12. Portion of the spent ovary of a fish sacrificed on July 18 showing spontaneous atresia. ×31

Fig. 13. Portion of the ovary from a fish twenty-eight days after hypophysectomy. Operated on October 2. ×85

Fig. 14. The same as above, from a fish hypophysectomized on October 8 and kept for seventy-eight days. ×77

Fig. 15. Ovarian portion of a fish one hundred and eighteen days after hypophysectomy. Operated on November 3. ×77

Fig. 16. Ovarian portion of a fish ninety-eight days after hypophysectomy. Operated on September 9. Only yolk-less oocytes remained intact. ×42



F. YAMAZAKI: The effects of hypophysectomy on the ovary

PLATE III

Fig. 17. Ovarian portion of an intact control killed on September 13. ×42

Fig. 18. The same as above, from an intact control killed on October 2. ×42

Fig. 19. Ovarian portion of a "mock control" operated on September 9 and killed on October 28 (kept for 49 days). Many oocytes in the late yolk vesicle stage are visible. Heidenhain's iron hematoxylin-light green. ×37.

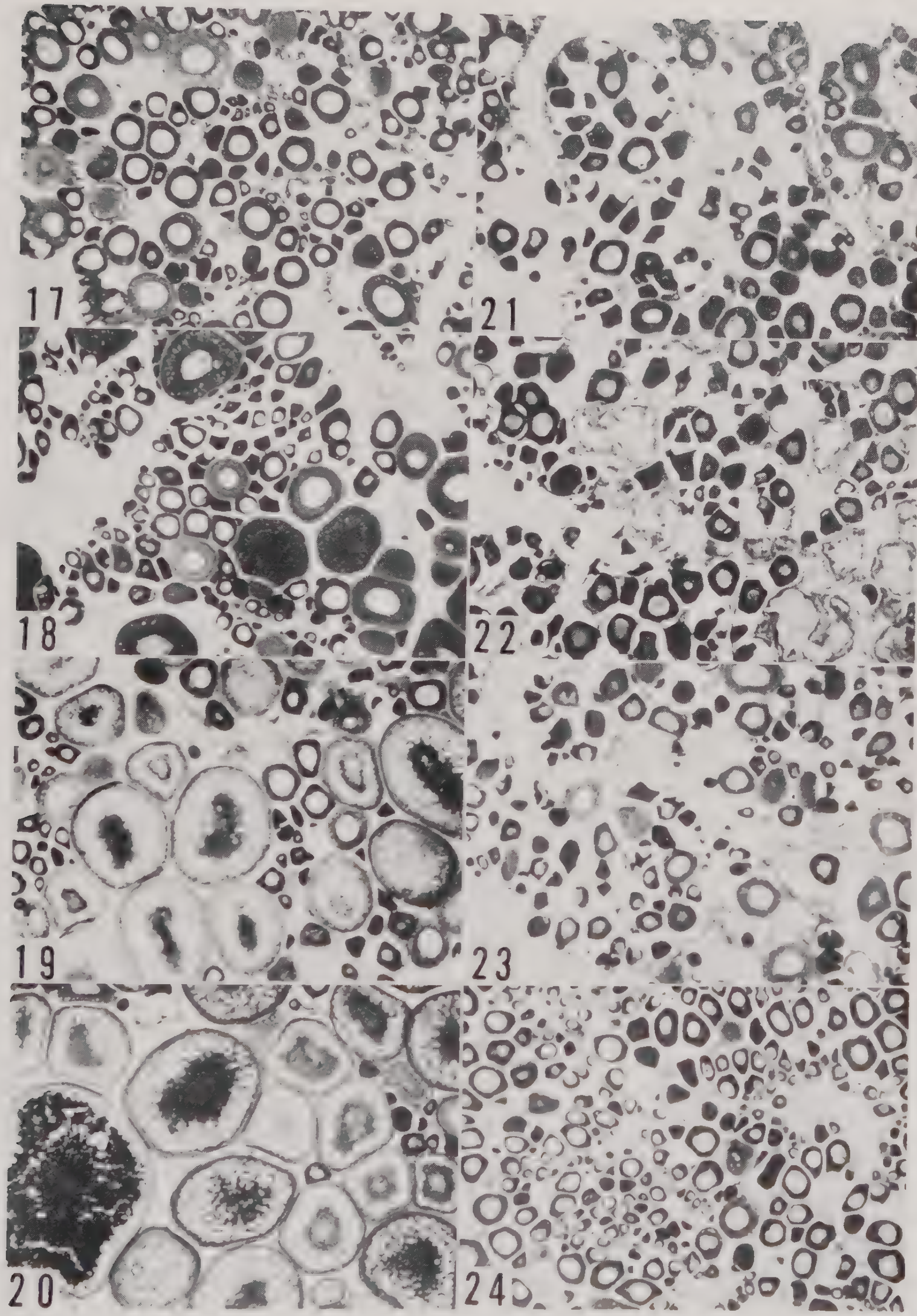
Fig. 20. Ovarian portion of an intact control killed on October 27. Yolk stage oocytes are visible. ×37

Fig. 21. Ovarian portion of a fish twenty-seven days after hypophysectomy. Operated on September 3. ×42

Fig. 22. The same as above, from a fish hypophysectomized on September 9 and sacrificed thirty-five days later. ×42

Fig. 23. The same as above, from a fish forty-nine days after hypophysectomy. Operated on September 9. ×42

Fig. 24. Ovarian portion of a fish hypophysectomized on September 9 and cultured for ninety-eight days. All oocytes remains unchanged without the formation of yolk. ×42



F. YAMAZAKI: The effects of hypophysectomy on the ovary

HISTOLOGICAL AND CYTOLOGICAL CHANGES IN THE OVARY OF A VIVIPAROUS TELEOST, *NEODITREMA RANSONNETI* STEINDACHNER DURING GESTATION

Takao IGARASHI

Faculty of Fisheries, Hokkaido University

Introduction

The habits of viviparity and the structures of the gonads have been noticed by many authors, i. e. Eigenmann (1892), Hubbs (1917), Turner (1933, '37, '38 a, '38 b, '40, '52), Mendoza (1937, '39, '40, '41, '43, '56), etc. in several families of teleostean fishes. Concerning Embiotocidae which is among the families, Hubbs (1917) described the habits of viviparity, Eigenmann (1892) the development of embryos while Turner (1938 a) wrote on the histological changes occurring in the ovary during gestation of *Cymatogaster aggregatus*. Uchida (1938) treated some characteristics of viviparity in his paper on the life history of a Japanese embiotocid, *Ditrema temmincki*. Ishii (1957, '60) also recently reported on the seasonal changes in the ovary of the same species.

Neoditrema ransonneti STEINDACHNER, Japanese name "Oki-tanago" which belongs to the same family, has remained quite unknown as to the detailed mechanism of viviparity. The author, therefore, investigated functional relationships between the ovary and the embryos of the species, especially from the histological and cytological points of view.

Before going further, the author wishes to express his hearty thanks to the late Prof. S. I. Sato of the Zoological Laboratory, Faculty of Fisheries, Hokkaido University under whose guidance and criticism the presently described work was done. Thanks are also offered to Prof. S. Okada of the same laboratory for his kind revision of the manuscript.

Materials and Methods

The materials, *Neoditrema ransonneti* STEINDACHNER utilized in the study were collected during the months from April 1959 to August 1960 on the coast in the vicinity of Hakodate. The ovaries of about forty yearlings in various stages during the resting and gestation periods were fixed in Bouin's fixative fluid after the length and the greatest width of the ovaries had been measured. Then the middle part of each ovary was sectioned transversly and longitudinally in the thickness of 6–10 μ by ordinary paraffin method. Delafield's haematoxylin and eosin were used for staining.

Observations

1. General external features of ovary

In young of *Neoditrema* just after birth, the ovaries of females are decidely smaller in size than the testes of males. In August a female sample of 42 mm length which was just born had an ovary of only 3 mm, together with the posterior extension of the ovarian duct. The ovaries of samples in December or January measure about 8 mm in length and 4 mm in diameter. Probably fertilization of eggs takes place first at this period when the young are about 5 months old. By early April the ovary grows rapidly to about 18 mm in length and about 8 mm in diameter. At this time the embryos which measure 2 or 3 mm length with a small yolk sac are found in the ovary. In late May the ovary measures about 22 mm in length and embryos in the ovary have grown to attain 15 mm in total length. By this time the ovary with its ovarian duct changes from pear shape to oval in form. In the period from late July to early August the ovary is about 32 mm in length and 14 mm in diameter. At this stage the embryos are discharged from the maternal body. The young just after birth from yearling females range normally 27–30 mm in length while those from larger females may measure 38 mm or more.

The spatulate extensions of the vertical fins are evident when embryos measure 15 mm length in late May in the ovary and remain almost to the end of foetal life. Just before birth the extensions are normally absorbed. After the embryos are born the maternal ovary begins to decrease in size and shrinks to 22 mm length and 12 mm diameter in a month.

2. General histological structures of ovary

The ovary of *Neoditrema ransonneti* resembles that of *Cymatogaster aggregatus* and *Ditrema temmincki* in structure. The ovary consists of three parts, viz. ovarian wall, ovarian cavity and ovigerous folds (Plate I: Fig. 4; Plate II: Fig. 1).

The ovarian wall is composed of an epithelium of outer surface, a subepithelial layer of connective tissue, circular and longitudinal muscle layers and an epithelium of inner surface.

The ovigerous folds consist of 6 lamellae projecting from the inner dorsal surface of the ovarian cavity. The anterior and ventral margins of 3 lamellae fuse together, so it seems to be 2 folds externally. Posteriorly interlamellar spaces communicate directly with the oviduct. The lamellae are covered with a cuboidal epithelium and inside the epithelial surface there are formed, stroma cells, con-

nective tissue fibers, small young cells and larger oocytes which are surrounded by a follicular epithelium.

During gestation, embryos are found between two lamellae of the fold or between the lamella and ovarian wall.

3. Histological structures of early ovary

The ovary of 3 mm length from a young collected on the 15th August which is soon after birth, is quite immature and shows no general arrangement of the tissue such as is found in matured ovaries. The anterior one-third of the ovary is swollen and contains ovigerous tissues but the posterior portion is composed of a thin wall duct only. The swollen part measures about 0.8 mm in diameter. The ovarian wall is very thin. The ovigerous tissues are separated into right and left masses by a septum. Each of the masses is divided into three lamellae by two internal dorsoventral, longitudinal clefts which are open posteriorly (Plate I: Fig. 1). The lamellae are composed of superficial epithelium, stroma cells, connective tissue fibers, germ cells and developing oocytes. There can not yet be observed any tissue spaces which appear later under the epithelium of the ovigerous folds (Plate I: Figs. 2, 3).

The ovaries of the young collected on the 20th September are about 5 mm in length and have the same thin ovarian walls as the ovary of 3 mm (Plate I: Fig. 4). A simple low cuboidal epithelium lines the internal surface of the wall and connective tissue which contains elastic fibers is going to develop between the epithelium and muscular layers. Small blood vessels are distributed richly in the muscular layer. The ovigerous folds are six in number and the septum has disappeared. The folds are filled with spindle-like or round stroma cells with pale nuclei and conspicuous cytoplasm. Some of these cells gather particularly around germ cells and developing oocytes (Plate I: Figs. 5, 6).

Blood vessels distributed within the stroma and in some cases in the connective tissue layer are slender and not numerous. Small germ cells lie in the stroma near the connective tissue layer and protrude into the tissue spaces which are produced by an expansion of the fold. The oocytes protrude further and the largest ones measuring about 0.1 mm in diameter fill the tissue spaces. At this time spermatozoa are found mostly at the dorsal and ventral blind ends of the ovarian cavity in masses.

In the young collected on the 6th December the ovaries are 8 mm in length and 4 mm in diameter. Noticeable changes begin to occur in the histological structures of the ovary after this stage. The muscular layers of the ovarian wall are

developing and distincty thicker than the previous samples (Plate II: Fig. 1). The epithelium lining the inner surface of the wall is composed of high columnar cells in irregular arrangement and now contains a large number of secretory reservoir cells. The connective tissue under the epithelium is remarkably thick and very rich in blood vessels. On the inner surface of the wall, low ridges are formed richly; they protrude into the ovarian cavity. This is because the inner surface of the walls increases in area due to the remarkable development of the secretory reservoir cells. The ovigerous folds are more extensive and highly wrinkled than previous samples. The ovarian cavity is mostly occupied by them. The tissue spaces in the folds are very extensive.

The stroma cells and connective tissue are reduced in number (Plate II: Figs. 2, 3). The epithelium of the ovigerous folds shows a little evidence of secretory activity. Some of the cells in the epithelium of both ovigerous folds and ovarian wall are being separated from the underlying connective tissues because of the accumulation of secreted material. Small patches of such cells are desquamated in the ovarian cavity. Both immature and fully grown oocytes are observed scattered in the ovigerous folds (Plate II: Fig. 4).

The fully developed oocytes surrounded by follicles lie under the epithelium. Sperm masses are distributed more widely than in earlier stage (Plate II: Figs. 5, 6).

4. Histological structures of gravid ovary

Fertilization is completed by a process during which sperms pass directly through the epithelium of the ovigerous folds and get to the mature eggs. The ovary when the fertilization is first performed is about 8 mm in length and 4 mm in diameter in early December. Immediately after the fertilization eggs are extruded from the ovigerous folds into the nearest tissue space, so that some of them come to lie between the ovarian wall and the ovigerous fold while others are within the cleft or space between two folds.

In the young collected on the 10th April the ovaries are 18 mm in length, containing embryos which are visible to the naked eye through the ovarian wall. At this same time, the ovigerous folds contain degenerating oocytes in large tissue spaces (Plate III: Figs. 1, 2). The epithelium of ovigerous folds consists of high columnar cells with round nuclei. The cytoplasm of the cell is strongly stained with haematoxylin. Some of the epithelial cells are desquamating into the ovarian cavity whilst others are enlarging in the epithelial layer (Plate III: Figs. 3, 4). The inner epithelium of the ovarian wall is undergoing the same great changes as the active ovigerous folds are. The epithelium is rugged due to the existence

of wrinkles and the subepithelial connective tissue layer is thick (Plate III: Fig. 6). The epithelial cells of the ovarian wall and the ovigerous folds are almost the same in histological characteristics. Peculiar thick-wall blood vessels are distributed inside the ovigerous folds (Plate III: Fig. 2). An artery and vein are always bound together by a thick sheath composed principally of longitudinal elastic connective fibers (Plate III: Fig. 5).

In the young collected on the 22th May the ovaries measure about 22 mm in length and are extremely distended with embryos. The ovigerous folds have large tissue spaces filled with fluid and blood vessels surrounded by a connective tissue membrane (Plate IV: Figs. 1, 2). A network of small capillaries is seen in the subepithelial connective tissue of both the ovigerous folds and ovarian wall (Plate IV: Fig. 3). The epithelial cells of the inner surface of the ovarian wall are high columnar and hypertrophic, having a round nucleus (Plate IV: Fig. 4). Some of the cells are broken and cell contents have flowed out into the ovarian cavity (Plate IV: Fig. 5). Other cells in the epithelial layer are columnar and greatly swollen. This means that secretory activity is at maximum (Plate IV: Fig. 6).

The late period of the gestation which comes in June and July is marked by the growth of the embryos, the shrinkage of the tissue spaces in both ovigerous folds and ovarian wall. In the young collected on the 16th July the ovary is 32 mm in length and 14 mm in maximum width. The fluid in the tissue spaces has been lost. The ovigerous folds are thin and fairly solid. Scattered stroma cells, connective tissue fibers, and large granular free cells are found as the principal structures in the shrunken folds. Numerous large blood vessels run in the tissue of the folds and branch off in a network just beneath the epithelium (Plate V: Figs. 1, 2). The epithelium of the ovigerous folds are restored to normal condition; the epithelial surface is flat and smooth, the cells are columnar. Small fluid reservoirs remain at the bases of the cells. This fact means that the secretion activity is greatly reduced (Plate V: Fig. 3). The inner epithelium of the ovarian wall is still wrinkled.

After the birth of the embryos the ovary undergoes a rapid shrinking. The ovary of a female collected on the 5th August which is in postpartum stage is rapidly shrinking, measuring 22 mm in length.

The epithelia of both ovigerous folds and ovarian wall are being restored to the normal condition; the nuclei of the epithelial cells are irregular and flat in form (Plate V: Fig. 6). A large number of free cells containing many large granules are seen in small tissue spaces of ovigerous folds and the subepithelial connective tissue layer of ovarian wall.

The large blood vessels remain without any reduction in thickness of wall.

being surrounded by connective tissue in spite of the reduction of most other structures (Plate V: Figs. 4, 5). Some small oocytes are still alive during the changes of the ovary and now begin to grow. No spermatozoa are found in the ovarian cavity.

5. Functional relationships between embryo and ovary

Discussions have been offered on the functional relationships between embryo and ovary especially by Blake (1867), Eigenmann (1892), Turner (1938a) and Mendoza (1956), making valuable suggestions. The writer's observations on the structure of the ovary and its histological changes in *Neoditrema* are in good agreement with those in *Cymatogaster* by Turner (1938 a).

Copulation in *Neoditrema* seems to take place in late September. Spermatozoa are found in the ovarian cavity of females collected in late September, but never found in females collected at an earlier time. The writer's observation suggests that fertilization takes place in December or in January and that eggs are discharged from the ovigerous folds into the ovarian cavity soon after fertilization.

In the present species, the gestation period seems to last from January to July or to August. During this period, the ovaries undergo marked changes in structure and function. The epithelia both of the ovarian wall and ovigerous folds become remarkably hypertrophic and many large tissue spaces filled with fluid appear in the ovigerous folds at an early stage of gestation. Vascular development in the ovary is not yet very prominent. Late in the gestation period, the secretory activity is reduced and the fluid in the tissue spaces disappears. On the contrary, vascularity of the ovarian wall and the ovigerous folds develops remarkably. Such development seems indicate that the methods of food and oxygen supply to young embryos differ considerably in the early and late stages. The early embryo would have comparatively few needs and could be easily satisfied by the fluid contained in the tissue spaces and the epithelial reservoir cells. The decreased secretory activity and the disappearance of the fluid in the tissue spaces during late gestation bring about a remarkable development in vascularity of the ovary. The late embryos would be supplied the greater part of their demands directly from their mother through the vascular system rather than from the secretions of the ovary. At this period, the first gill cleft is formed in the embryos, the alimentary canal begins to function and desquamated cells, unused sperm and blood cells are utilized as food. Long villi located in the hind gut evidently faciliate absorption of digested materials. The absorption of the embryo's needs is augmented externally by spatulated extensions on the vertical fins.

Summary

1. Structures of the ovary of *Neoditrema ransonneti* are essentially the same as those of *Cymatogaster aggregatus* and *Ditrema temmincki*.
2. Oocytes of *Neoditrema* begin to develop in August and become fully grown in December. During this period, both the ovarin wall and ovigerous folds remain rather undeveloped.
3. The testes of males are clearly distinct just after birth. The females are inseminated soon after birth which occurs in July or in August. The spermatozoa remain in the ovarian cavity.
4. Fertilization takes place in December or in January. Fertilized eggs are discharged from the ovigerous fold into the ovarian cavity soon after fertilization and continue to develop there until July or August in which months the embryos are discharged.
5. In early gestation the ovigerous tissues become considerably swollen and the tissue spaces are filled with fluid. In late gestation these tissue spaces shrink and fluid disappears.
6. The epithelia both of the ovarian wall and ovigerous folds are fairly simple during resting stage of the ovary but greatly increase their secretory activity during the period from just before gestation and early gestation.
7. The blood vessels gradually enlarge and capillaries develop well in networks during gestation.

Literature

Blake, J.E. (1867). On the nourishment of the foetus in Embiotocoid fishes. *Proc. Cal. Acad. Nat. Sci.* 3, 314-317.

Eigenmann, C.H. (1892). On the viviparous fishes of the Pacific coast of North America. *Bull. U. S. Fish. Comm.* (1894) 12, 381-478.

Hubbs, C.L. (1917). The breeding habits of *Cymatogaster aggregatus*. *Copeia* 47, 72-74.

——— (1921). The ecology and life-history of *Amphigonopterus aurora* and of other viviparous perches of California. *Biol. Bull.* 40(4), 181-209.

Ishii, S. (1957). Seasonal changes in the ovary and testis of the viviparous teleost, *Ditrema temmincki*. *Annot. Zool. Japon.* 30(4), 204-210.

——— (1960). Effects of testosteron on the *Ditrema temmincki*. *Annot. Zool. Japon.* 33(3), 172-177.

Mendoza, G. (1937). Structural and vascular changes accompanying the resorption of the proctodaeal processes after birth in the embryos of the Goodeidae, a family of viviparous fishes. *Jour. Morph.* 61, 95-125.

——— (1939). The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. I. The breeding cycle. *Biol. Bull.* 76, 359-370.

——— (1940). The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. II. The cycle changes in the ovarian soma during gestation. *Biol. Bull.* 78, 349-365.

——— (1941). The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. III. The germ cell cycle. *Biol. Bull.* 81, 70-79.

——— (1943), The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. IV. The germinal tissue. *Biol. Bull.* 84, 87-97.

——— (1956). Adaptation during gestation in the viviparous Cyprinodont teleost, *Hubbsina turneri*. *Jour. Morph.* 99, 73-95.

Turner, C.L. (1933). Viviparity superimposed upon ovo-viviparity in the Goodeidae, a family of Cyprinodont teleost fishes of the Mexican Plateau. *Jour. Morph.* 55, 207-251.

——— (1937). Reproductive cycles and superfetation in Poeciliid fishes. *Biol. Bull.* 72, 145-164.

——— (1938a). Histological and cytological changes in the ovary of *Cymatogaster aggregatus* during gestation. *Jour. Morph.* 62, 351-373.

——— (1938b). The reproductive cycle of *Brachyrhaphis episcopi*, an ovo-viviparous poeciliid fish, in the natural tropical habitat. *Biol. Bull.* 75, 56-65.

——— (1940). Adaptation for viviparity in Jenynsiid fishes. *Jour. Morph.* 67, 291-297.

——— (1952). An accessory respiratory device in embryos of the embiotocid fish, *Cymatogaster aggregatus*, during gestation. *Copeia* (3), 146-174.

Uchida, K. (1938). [Life history of a viviparous teleost, *Ditrema temmincki* BLEEKER.] (in Japanese). *Dobutsugaku Zasshi* (Zool. Mag.) 50, 194.

Explanation of Plates

PLATE I

Fig. 1. Cross-section of the ovary of a young female collected on the 15th August ×55 Ovigerous folds are unfolded and in simple condition.

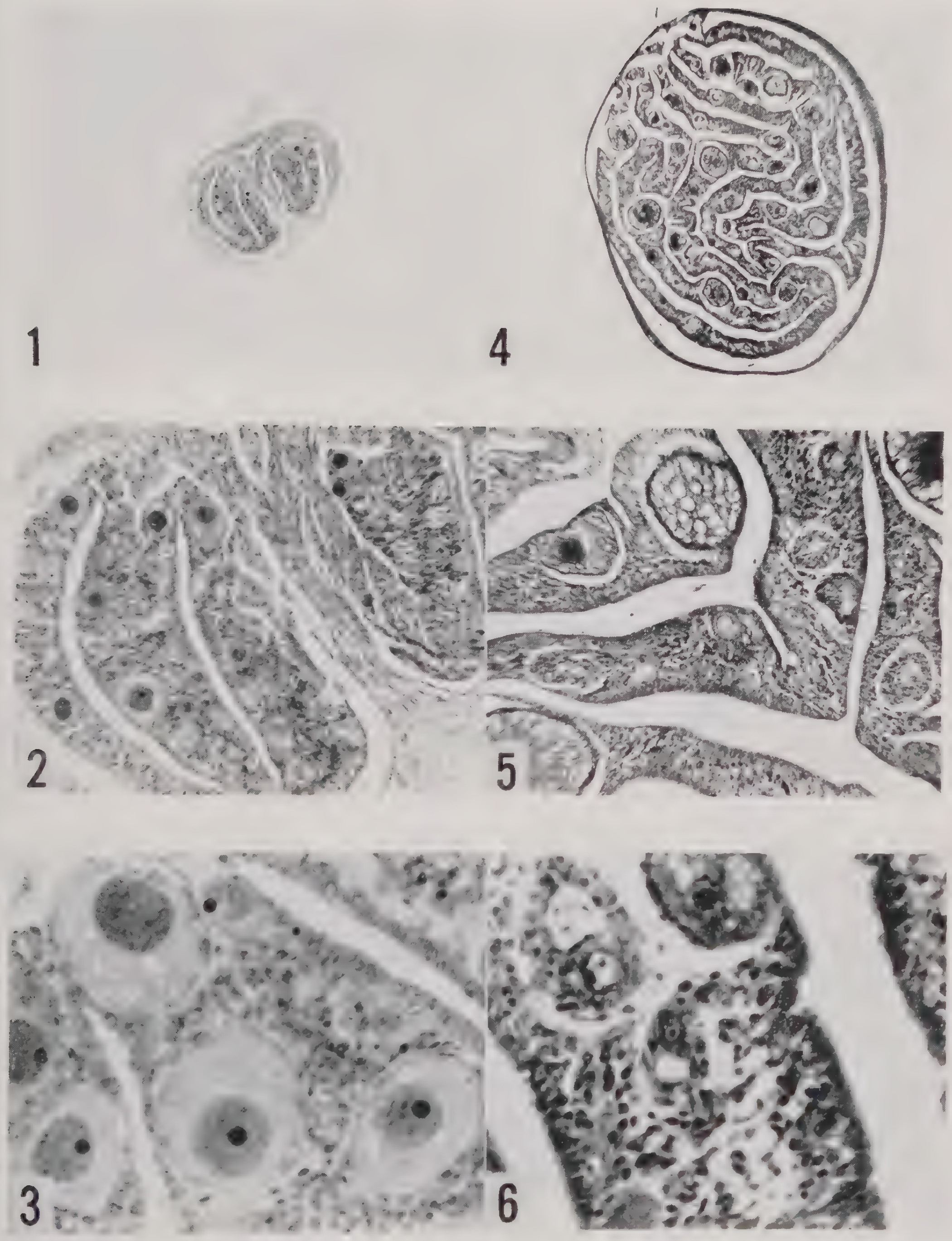
Fig. 2. Magnification of Fig. 1×270

Fig. 3. Further magnified view of Fig. 2 ×680 The folds contain stroma cells, connective tissue fibers and deveoloping oocytes.

Fig. 4. Cross-section of the ovary of a female collected on the 20th September ×55 Ovigerous folds are much folded and voluminous.

Fig. 5. Magnification of Fig. 4 ×270 Oocytes are developing further within the ovigerous folds.

Fig. 6. Further magnified view of Fig. 5 ×680 The folds are filled with spindle-like or round stroma cells of which nuclei are pale in color. The epithelial cells are low in height.



T. IGARASHI: Changes in the ovary of *Neoditrema*

PLATE II

All figures were obtained from sections of the ovary of a female collected on the 6th December.

Fig. 1. View of cross-section of the ovary ×55 The muscular layer of ovarian wall is thick.

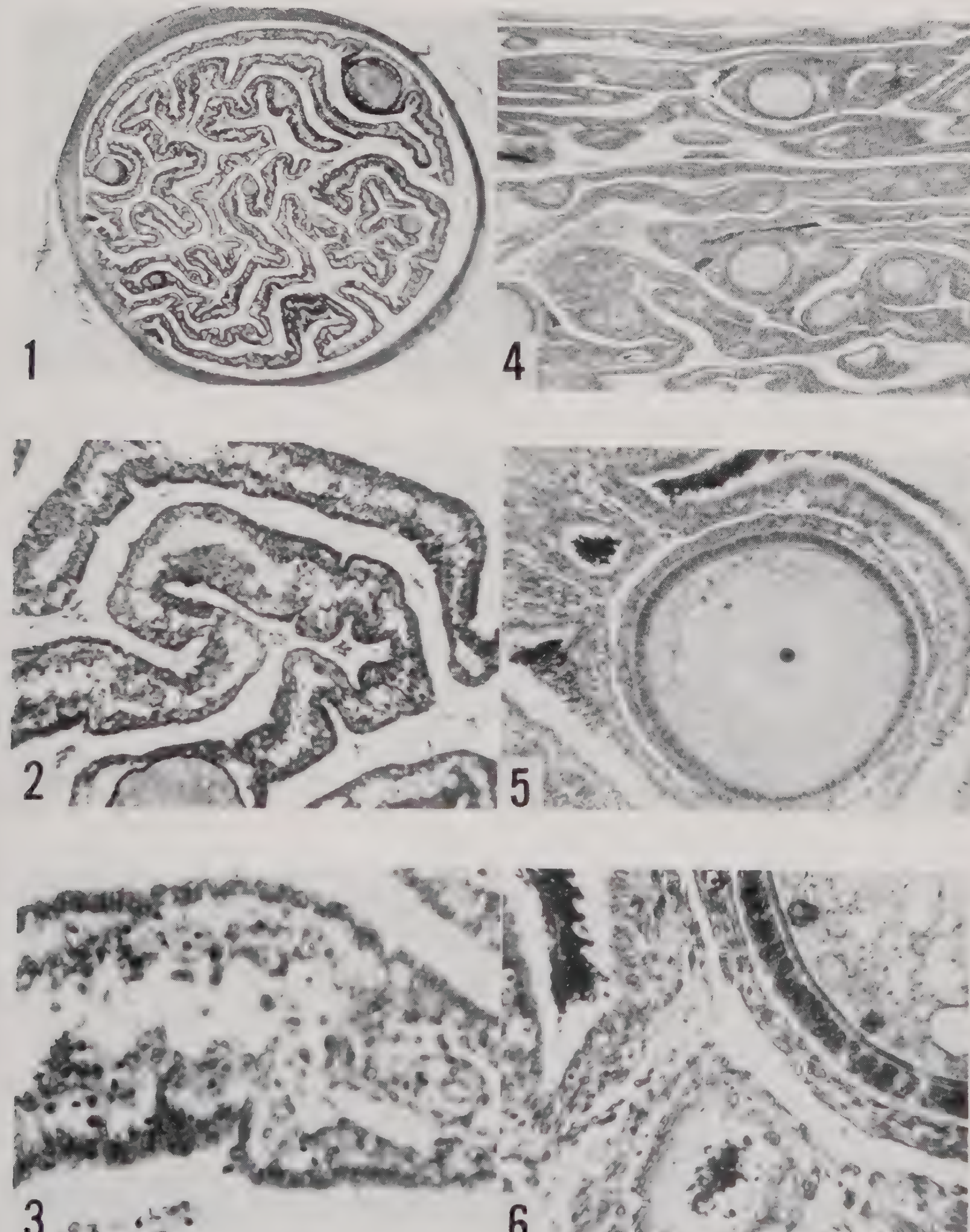
Fig. 2. Magnification of Fig. 1 showing a part of ovigerous folds especially ×270 Tissue spaces are observed extensively in the ovigerous folds.

Fig. 3. Further magnified view of Fig. 2 ×680 Stroma cells and connective tissue fibers are much reduced in number. The epithelial cells are preparing for secretory activity.

Fig. 4. View of a longitudinal section of the ovary ×80 A large number of oocytes are maturing. Sperm masses are found in the ovarian cavity.

Fig. 5. Magnification of Fig. 4 showing one of the oocytes especially ×300

Fig. 6. Further magnified view of Fig. 5 ×720 The oocyte is surrounded by columnar epithelium.



T. IGARASHI: Changes in the ovary of *Neoditrema*

PLATE III

All figures were obtained from cross-sections of the ovary of a female collected on the 10th April.

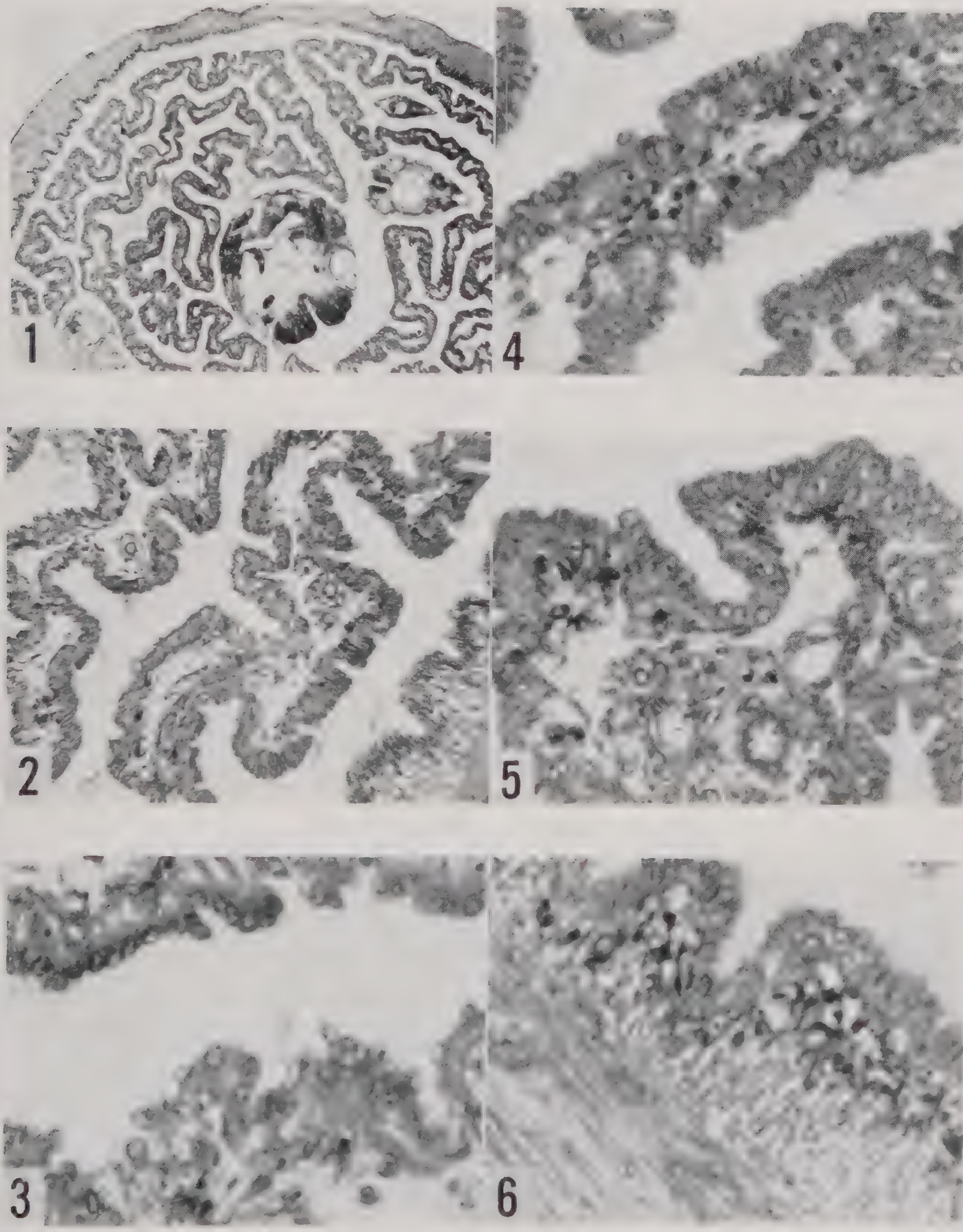
Fig. 1. View of a part of the ovary ×55 Ovarian cavity is mostly occupied by highly wrinkled ovigerous folds. Three embryos are visible.

Fig. 2. Magnification of Fig. 1 ×270 The ovigerous folds are covered with high columnar epithelial cells. Fine blood vessels present in the folds.

Figs. 3 and 4. Further magnified view of Fig. 2 showing a part of the epithelium of the ovigerous folds especially ×680 The cells of the epithelium are large. The epithelium shows that secretory function is carried on actively.

Fig. 5. Further magnified view of Fig. 2 showing the epithelium of the ovigerous fold and blood vessels especially ×680

Fig. 6. Further magnified view of Fig. 2 showing a part of ovarian wall especially. ×680 Inner surface of the ovarian wall is highly rugged. Subepithelial connective tissue layer of the wall is thick.



T. IGARASHI: Changes in the ovary of *Neoditrema*

PLATE IV

All figures were obtained from cross-sections of the ovary of a female collected on the 22th May.

Fig. 1. View of a part of the ovary ×55 Ovigerous folds are still swollen. Three embryos are visible.

Fig. 2. Magnification of Fig. 1 showing a part of the ovigerous folds especially ×270 The tissue spaces of the ovigerous folds are very large, being filled with fluid. Blood vessels are surrounded by a connective tissue membrane.

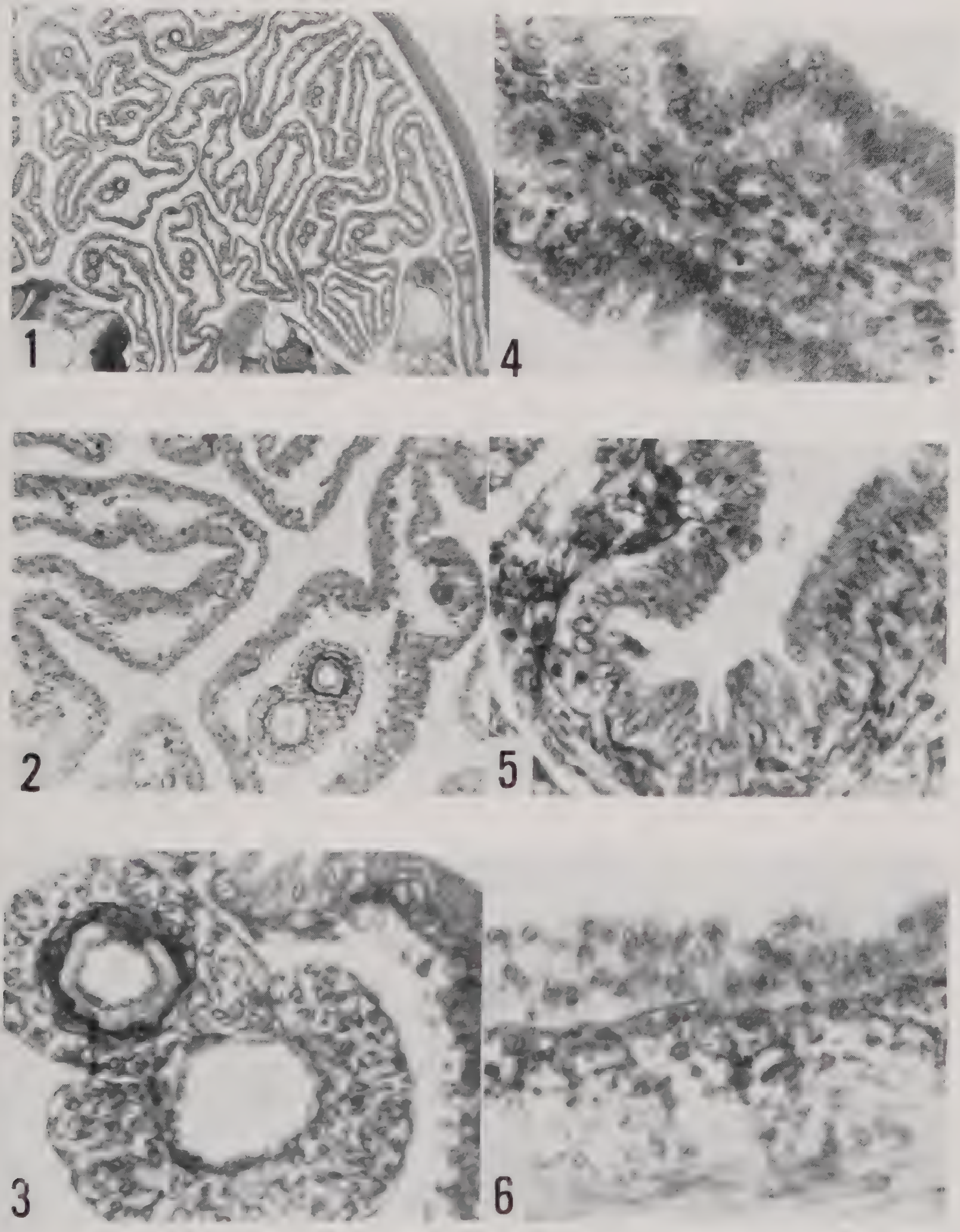
Fig. 3. Further magnified view of Fig. 2 showing the blood vessels in the ovigerous fold especially ×680

Fig. 4. Further magnified view of Fig. 2 showing a part of the ovigerous fold especially ×680 The epithelial cells covering the surface are high columnar and hypertrophic.

Fig. 5. Further magnified view of Fig. 2 showing the epithelium of the ovigerous fold especially ×680 The cells of the epithelium are large. Secretory activity is at maximum. Some of the epithelial cells are desquamating into the ovarian cavity and others undergoing vacuolation.

Fig. 6. Further magnified view of Fig. 2 showing a part of the inner surface of ovarian wall especially ×680 State of the epithelium and vascularization are like those of the ovigerous fold shown in Fig. 5.

PLATE IV



T. IGARASHI: Changes in the ovary of *Neoditrema*

PLATE V

Fig. 1. View of cross-section of the ovary of a female collected on the 16th July ×55 Embryos are large and at just before birth. Tissue spaces of ovigerous folds are shrinking.

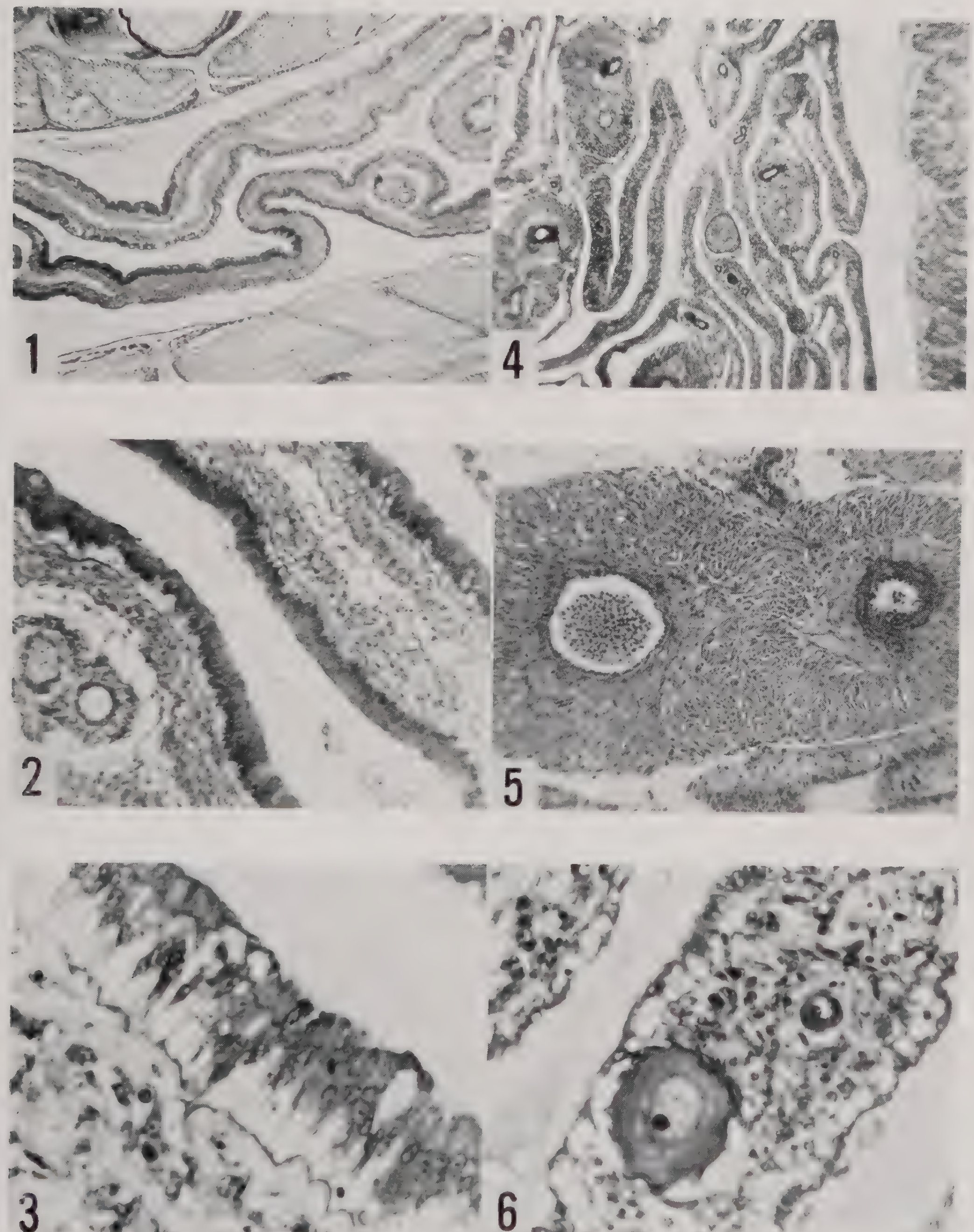
Fig. 2. Magnification of Fig. 1 ×270 Numerous large blood vessels and their fine branches run through the internal tissue of the folds.

Fig. 3. Further magnified view of Fig. 2 showing the epithelium of the ovigerous fold especially ×680 Tissue spaces shrink. Epithelium of ovigerous fold is also shrinking but small fluid reservoirs present at the bases.

Fig. 4. View of cross-section of the ovary of a female collected on the 15th August ×55 An ovary after the discharge of embryos. Epithelia both of ovigerous folds and ovarian wall are being restored to normal condition. Large blood vessels surrounded by a thick connective tissue sheath present.

Fig. 5. Magnification of Fig. 4 showing especially the arteries and veins restored to normality ×270 Arteries and veins are permanently thick and large.

Fig. 6. Further magnified view of Fig. 4 showing a part of the ovigerous folds especially ×680 Epithelial cells are irregular and flat in form. A few small growing oocytes are found in the ovigerous folds.



T. IGARASHI: Changes in the ovary of *Neoditrema*

河川泝上期に於けるサクラマス (*Oncorhynchus masou*) の血液の性状
特に滲透圧濃度の季節的変化について

久　保　達　郎
（北海道大学水産学部淡水増殖学教室）

Notes on the Blood of *Masu* Salmon (*Oncorhynchus masou*) during Up-stream Migration for Spawning, with Special Reference to the Osmoconcentration

Tatsuro KUBO

Abstract

The seasonal changes in osmoconcentration and some other characteristics of *masu* salmon blood during up-stream migration were studied.

At the beginning of the migration when the fish stay in the lower part of a river, the freezing point of their blood is slightly high, but it tends to decline, as the season progresses and the fish ascend the river. Then, a temporary rise in the freezing point of blood occurs in the fish whose sexual products are developing in preparation for spawning, and finally the freezing point of blood falls markedly in the fish which is ready for spawning.

The chloride content of blood shows the same fluctuation as that of the freezing point.

There is found an apparent inverse correlation between the change of the density and that of the water content of blood. These two characteristics may bear no direct relationship with the freezing point and chloride content of blood. In contrast with blood of the inshore-migrating fish, that of fish during up-stream migration shows relatively high density and low water content. However in the blood of the ripening fish, the reduction of the density and the increasing of the water content are obvious.

These changes of the density and the water content of blood may be induced by changes in protein content and some other biochemical characteristics of blood.

緒　　言

サクラマス（*Oncorhynchus masou*）は海洋生活の第 2 年目の春河川に泝上するが，その産卵は秋に行われるために泝上後河川内で遊ぶ期間がかなり長く成熟の進行に伴ってその形態，色彩並に食性に著しい変化の現れる事は一般に良く知られる所である。従って同時に魚体内部に於て生理学的変[illegible]（[illegible]，1960）に於て海洋生活期のサクラマスの血液の滲透圧濃度の季節的変化について示したが，今次の研究に於て泝河より産卵に至るまでの期間の血液の性状について観察したので，ここに主として滲透圧濃度に関係の深い氷点降下度と塩分含量及び比重並に水分量の季節的変化について報告する。

[illegible]

並に道立水産孵化場の各位特に石川嘉郎，広重兼太郎，舘竜司，桑田治，笹本安弘，鎌口憲治，長谷川友之助の諸氏は捕獲現場に於ける材料の準備について多大の配慮を賜った。又，石狩町中村信一，斜里町字登呂漁業協同組合手塚弘の両氏からは建網による材料の提供について便宜と好意を戴いた。血液の採取並に処理に際しては北海道さけますふ化場小林哲夫，阿部進一の両氏及び北海道大学水産学部小坂淳氏に色々手数を煩した。北海道大学水産学部山本喜一郎教授並に田村正教授は原稿閲読の労と有益な批判教示を賜った。ここに記して上記の諸氏に心から謝意を表する次第である。

材料及び方法

材料の大部分は北海道さけますふ化場の捕獲装置に入ったものから得られた。主として常呂川，斜里川及び石狩川のものを併せて用いたが，これら三河川の魚は泝河の開始並に産卵の時期に関しては殆んど一致しているので，材料の大部分を一つの系列のものと仮定して観察した。石狩川河口部の魚についてはすでに前報に於て触れているが，比較考察の都合上再度これを掲げた。用いられた魚の体長は 42～54 cm の範囲（平均 45.3 cm），体重は 0.95～2.0 kg の範囲（平均 1.4 kg）のものである。

血液の採取に当っては凡て健全な魚を水中より取り揚げ，直ちに尾部を切断した。血液の処理及び分析測定の方法は凡て前報（久保，1953; 1954; 1955）に示したものと同様である。

結　　　果

観察の結果は第 1 表に示す通り月日の順に配列した。前報（久保，1960）では沿岸並に沖合生活時期の段階を I～V，河口部のそれを VI として六つの相を設けたが，それらに引続く所の生活史の段階を便宜上 VII～X の相に区分した。

第 VI の相の魚について

これに関してはすでに前報に於てその概要を述べたが，この相にある魚は恐らく河川泝上開始の段階にあるものである。石狩に於て得られた魚は実際には河口部より少しく右側の厚田方面に偏った建網で捕獲されているが，石狩川の流出状況より判断してこの位置は殆んど河口部と見做される場所である。即ちこの水域は河川水の影響をうけてその表層水の塩分は著しく低く，1959年 6 月 4 日の調査では表層水の比重は沖合 1000 m で 1.0039 (15°C)，沖合 600 m で 1.0023 (15°C) であり，これは塩分にして夫々約 6‰ 並に 4‰に相当する。実際に沖合 600 m の位置に於けるサクラマスの漁獲は沖合 1000 m のそれよりも著しく多い。又，岩尾別に於ける材料は岩尾別川の川口より約 3000 m 東北方の比較的岸に近い場所（約 200 m 沖）の建網で獲られており，恐らくこの個体は沿岸の河川を求めて動いている魚群に属するものと推測される。

前報の通り，この第 VI の相の魚の血液の氷点降下度は −0.83°C と言う例外的なものを除いてその前の第 V の相の値が −0.73～0.75°C であるのと比べるとかなり低く，又塩分の含量に於ても同様の傾向がうかがわれ，第 V の相では 400 mg 以上のものが多いのに対して，この相では 400mg を越すものが見られない。最後の岩尾別沿岸に於ける 2 尾の場合はその典型的なものであり，氷点降下度は意外に低く 2 尾共に −0.68°C であり，又塩分含量が 369 mg 並に 364 mg と言う比較的小さい値となっている。しかしこの相では一般に比重が高まって 1.055 以上のものが多く，逆に水分量は 80% 若しくはそれ以下に低減している。この事は或る意味で血液が濃縮化を起し，しかもその原因として晶質以外のものが関与している事を暗示している。

第 VII の相の魚について

Table 1. Freezing point and some other characteristics of *masu* salmon blood

Phase	Date	Locality	Freezing point (Δ-°C)	Cl⁻ content (mg/DL)	Density (sp. gr.)	Water content (%)	Remarks
VI	58- 5-30	Ishikari	0.71	390	1.0552	80.2	Inshore or estuarine waters
	do.	do.	0.83	395	1.0554	80.2	
	59- 6 - 4	do.	0.70	365	1.0563	79.4	
	do.	do.	0.71	390	1.0563	79.9	
	57- 6 - 8	do.	0.75	375	1.0503	80.3	
	61- 6 - 6	Iwaobetsu	0.68	369	1.0509		
	do.	do.	0.68	364	1.0461		
VII	*52- 6 - 8	Nishibetsu R.	0.85				
	*52- 6 -18	Tokoro R.	0.75				
	59- 6 -24	Shari R.	0.73	375	1.0561	78.5	
	do.	do.	0.73	395	1.0583	79.0	
VIII	57- 7 -25	Tokoro R.	0.68	335	1.0554	81.9	Lower reaches
	do.	do.	0.65	330	1.0562	80.7	
IX	59- 8 -21	do.	0.69	435	1.0439	85.2	
	do.	do.	0.68	415	1.0435	85.2	
X	60- 8 -15	Iwaobetsu R.	0.69	318	1.0550	80.6	
	*52-10- 8	Shiribetsu R.	0.66	366	1.0510	84.0	
	56-10-15	do.	0.62	412	1.0330	91.7	
	57-10-15	Chitose R.	0.67		1.0530	81.0	Upper reaches
	do.	do.	0.64	352	1.0490	82.4	
	58-10-10	do.	0.64	310	1.0565	80.5	
	59-10-20	do.	0.64	370	1.0541	82.0	

* These data are taken from Kubo (1954)

この相の魚は前の第 VI の魚が海水淡水の入り混った水域に獲られたのと異って完全な淡水域に入った状態のものである。その材料は斜里川の下流部即ち河口より約 12 km 上流の部分で獲られたものであり，恐らく泝河後それ程長い時間を経過していないもののようである。その血液の氷点降下度 −0.73°C は第 VI の相のものよりもやや高く，塩分含量の変化は明らかでないが，著しい比重の増大 (1.056 以上) と水分量の減少 (79% 以下) と言う点から見れば，血液が第 VI の相に於けるよりも [illegible] 1953 [illegible] 6 [illegible] 6 日 [illegible] 6 月 18 [illegible] 0.85°C [illegible] 0.75°C [illegible] の要素に基く全般的な滲透圧濃度は河口部に於けるよりも高まり，その状態がかなり長く続くもののようである。このような現象は Greene (1904) のマスノスケ及び Benditt 等 (1941) の Atlantic salmon の場合には示されていない特異な状態である。

第 VIII の相の魚について

この材料は常呂川の中流部即ち河口より約 37 km の部分より獲られたものである。泝河後恐らく 2 ケ月近い時日を経過したものであるが，体形，体色より見て成熟の度合が未だそれ程進んでいない

状態のものである。この相の魚の血液に於ては氷点降下度，塩分含量の低下が著しく，特に塩分 335,330 mg と言う低い値はその前後の相のそれと比較して特徴的である。しかし比重並に水分量に於ては前の第 VII の相からの変化がそれ程大きくなく，高比重，低水分の状態を保持している。胃の内容より考えて魚はこの頃にはすでに殆んど餌を取っていないようである。

第 IX の相の魚について

この相の材料は第 VIII の相のそれと同一の場所で獲られたものであるが，その時期は 8 月下旬であり，魚体の側面にはすでにうすい桃色と緑色の斑紋が出現し，ウロコがややはげ難くなっていた事から判断して成熟の度合がかなり進んでいる魚と見做される。即ちその血液は前の相のものに比べて氷点降下度に於て僅に上昇の傾向にあるが，塩分含量の増大がかなり著しく，435,415 mg と言う値は前の相の塩分含量の約 30% 増に当る。更に注目される現象として，それまでに余り大きな変動が起らずに継続した高比重，低水分量の状態が逆に低比量，高水分量の状態に変っている事が特徴的である。

第 X の相の魚について

この相の材料は殆んど完全に成熟の段階に到達したものであり，さけますふ化場に於て採卵に供する時期のものである。実際にサクラマスがこの相に入る時期はもっと早いものであり，産卵の盛期は 9 月中～下旬であるが，ここでは材料入手の都合上大部分 10 月の材料のみを観察している。その大部分の個体の血液の氷点降下度，塩分含量共に著しく低下しているが，逆に比重は再び上昇し，水分量は同じく低減している。60 年 8 月 15 日岩尾別川に於て獲られた魚は単に時期のみから見れば，第 IX の相に該当しそうであるが，元来この川の魚は他処よりも早く成熟する傾向があり，しかもこの個体は完全に成熟した雄で一見して放精も間近いものと見做されたため第 X の相にある魚として取扱った。又 1956 年 10 月 15 日尻別川に於て採られた魚の血液の塩分，比重並に水分量は例外的なしかも異状な値を示している。

考　　　察

第 VI より第 X に至る五つの相の区分は材料採取の都合上約 1 ケ月の間隔をおいて設けられた所の便宜的なものであるが，しかし実際上それぞれの相の魚の血液にはかなり明白な特徴が現れている。

元来サクラマスの泝河開始より産卵に至る期間はかなり長く，通常 4 ケ月以上に亘るものであり，この間に於ける魚体の外観の変化並に生殖巣の発達は著しい（大野，1933; 佐野，1950）。更に又泝河に伴い当然外部環境即ち塩分濃度，水温，水素イオン濃度等に大きい変化が起る。従ってそれら内的及び外的要因の変動が血液の性状に何等かの影響を与える事は容易に推測出来る。即ち環境水の塩分濃度の急低下の結果として滲透圧調節作用の活溌化と呼吸機能の変化並にそれに伴う血液の緩衝作用の変化が生ずるに相違ない。又魚体そのものに起る各種の物質代謝の変化に基く血液成分の変化も予測される所である。

血液の氷点降下度を Greene (1904) のマスノスケ，Benditt 等 (1941) の Atlantic salmon に関する観察の結果と比較すれば，沖合より河口部を経て上流の産卵場えと向うに従って低減する傾向は似ているが，しかし泝河の後再度上昇の認められる事は特異の現象と言わなければならない。又第 IX の相の場合を除いて一般に著しい高比重，低水分の傾向にある事は泝河して産卵の直前にあるサケの場合（久保未発表）と共通する現象であり，黒田等 (1941) の「淡水，海水両域に生活出来る魚の血液の水分量は淡水中に於ては低下する」と言う見解と合致している。

第 1 表に示された血液の諸性状の季節的変化を各相の間に於て比較観察するために模式的表現を試

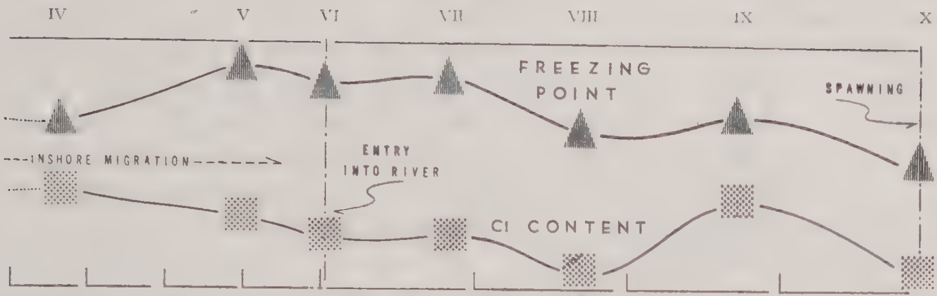


Fig. 1. Diagrammatically represented fluctuation of freezing point and chloride content of *masu* salmon blood during up-stream migration

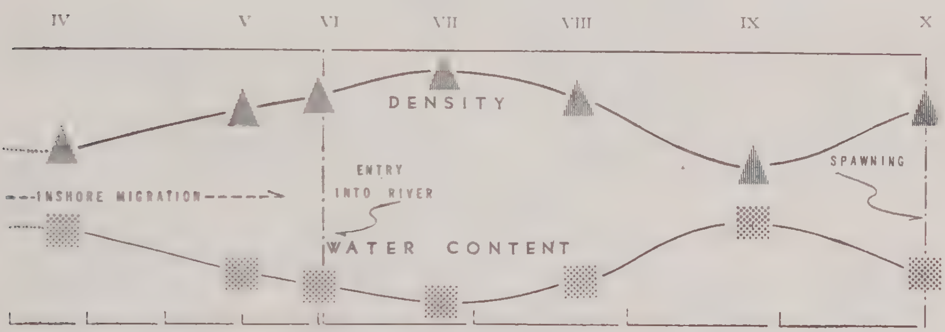


Fig. 2. Diagrammatically represented fluctuation of density and water content of *masu* salmon blood during up-stream migration

Table 2. Comparison of the partial osmotic pressure due to the chloride of blood between phases

	Phase						
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
$\frac{\Delta_{Cl}}{\Delta_T} \times 100$ (%)	34	25	28	27	26	33	29
	31	28	26	29	27	32	25
	33	28	27				30
	36	30	28				24
	34	29	27				29
	32	27	28				
	31	29	28				
	33	29					

Note....Δ_T: Total blood freezing point
Δ_{Cl}: Equivalent Cl^- freezing point

みたものが第 1, 2 図である。尚河川溯上の前の段階からの変化を見る目的で前報に掲げた海洋生活期の血液の性状に関する資料もグラフの中に附け加えた。

第1図を一見して判る通り，氷点降下度と塩分含量との間には一応相似変動の傾向がうかがわれる。今水の分子凍点降下度を −1.86°C として塩素イオンに基く氷点降下度（いわゆる滲透分圧）を計算して血液全体の氷点降下度に対する割合（%）を求めるならば第2表の通りとなる。個体数が少いので断言し難いが，他の相のものに於けるこの割合が 26〜29% の辺にあるのに対して第 IX の相のものの値は 32, 33% であり，これは海洋生活期の第 IV 相のそれに匹適する所の高い値であり，しかも一方その氷点降下度はそれ程高くない。この事は魚体内に於ける塩分の存在意義が滲透圧濃度の保持の為のみでは無い事を暗示している。

魚類の水分並に無機塩分の代謝調節作用の機構については Fontaine (1956) が多数の研究者の業績を要約しており，その中の重要なものとして副腎皮質ホルモンの作用，効果について述べている。又 Fontaine と Hatey (1954) は Atlantic salmon の産卵洄游並に産卵の時に副腎皮質ホルモンの分泌が増大する事を示し，更に Jones (1956) は Spalding の未発表の資料に基き，ACTH を注射された brown trout の血清並に筋肉中のナトリウム量の増大とカリウム量の減少を述べている。現在の研究の場合に見られる塩分含量の変動の過程としては，環境水の滲透圧に支配される所の一時的変化と共に或は上記のような内分泌機能の影響によるものがあるかも知れない。例えば第 IX の相に見られる著しい塩分含量の上昇はそのような観点に立てば説明可能である。

一方，第2図に示される通り血液の比重並に水分量の変動は氷点降下度並に塩分含量のそれとは直接相似の関係は認められず，しかも比重と水分量との間には明白な逆相関の関係が現れている事は注目せらるべき現象である。比重と水分量とが溯河の全期間を通じて氷点降下度の上下と無関係に変動している事は，これらの二者が無機塩その他の晶質とは深い関係を有せず，むしろそれ以外の，しかも共通の要素に支配されている事が推測される。沼野井 (1948) は一般に血液の比重は水分量と関係が深い事を述べ，加藤 (1950) は血液の比重の高低は蛋白質含量の多少と結び付いている事を述べている。試に著者の未発表資料より沿岸洄游から溯河産卵に至る間のサクラマスの血液中の蛋白態窒素の量に関するものを引用すれば下記の通りである。

	Phase						
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Total blood-N (mg/DL)	2170	2220	2550		3140		2010
	2130	2540	2400		2980		2495
	1690	3925	3190				3120
	1790	2820	2920				
	1710	2400					
	1400	2500					
Total serum-N (mg/DL)	505	727	975	1150		630	630
	530	690	975			520	610
		1110	1490				640
			990				
Serum albumin-N (mg/DL)	316	370	495	715		365	430
	296	370	585	670		370	410
		410	710				430
		510	760				

即ち海洋生活の初期（第 IV の相）に比較的低い値を示している蛋白質含量はその後上昇を始め，河川生活に入ってその傾向は一層大となる事は比重の場合に相通ずる現象であり，特に血清中の蛋白

質の組成の主体を占め，しかも生理学的に重要な機能を有するアルブミンの量と比重とが海洋生活期より産卵の時期に至る長期間を通じて相似変動の傾向にある事は注目に値する。この表の中の血液の総窒素量より近似的に蛋白態窒素の量を推定すればその量は大凡血液の 10～20% に該当している。この点からも血液の比重並に水分量が蛋白質含量と密接な関係にある事が理解される。尚前述の通り産卵直前のサケの血液は著しい高比重，低水分量を特徴とするが，一方その蛋白質含量は海洋生活期のそれと比べて明らかに大きい(久保未発表)。このような蛋白質と比重並に水分量との関係の有意性を示す研究はすでにウナギについて行われている。即ち Firly と Fontaine (1932) 並に Firly (1934) によれば成熟したウナギの降海時には血清蛋白質量が減少し，変態した幼魚の泝河の時にはそれが増大する。 又 Bertin (1956) はウナギの降海に際して血液中の蛋白質の分解とその結合水の放出が起り，これが滲透圧調節の過程の一つとなっていると述べている。

このような現象は恐らく洄游性の魚類に共通する所の補償的機能の現われであるかも知れない。

摘　　　要

海洋生活を終ったサクラマスの泝河より産卵に至る間の血液の氷点降下度，塩分含量，比重及び水分量の変動について調べた。

氷点降下度と塩分含量とはほぼ相似の変動を示し，全般的に泝河前のものよりも低い。しかし泝河直後の一時期及び産卵前に上昇する傾向がある。

比重と水分量とは明白に逆相関の関係にあり成熟前の一時期を除いて一般に高比重，低水分量が特徴的である。

比重と水分量の変動は必ずしも氷点降下度及び塩分含量のそれとは一致しない。

比重並に水分量の高低は蛋白質含量と密接な関係があるらしい。

文　　　献

Benditt, E., Morrison, P. & Irving, L. (1941). *Biol. Bull.* **80**, 429-440.

Bertin, L. (1956). *Eels, A Biological Study.* 192 p. London; Cleaver-Hume Press, Ltd.

Firly, S. & Fontaine, M. (1932). *C. R. Acad. Sci. Paris* **194**, 1854-1856.

———— (1934). *C. R. Soc. Biol.* **115**, 952 954.

Fontaine, M. & Hatey, J. (1954). *C. R. Acad. Sci. Paris* **239**, 319 321.

———— (1956). *Mem. Soc. Endocrinol.* (5), 69 82.

Greene, C. W. (1904). *Bull. U. S. Bur. Fish.* **24**, 429-456.

Jones, I. C. (1956). *Mem. Soc. Endocrinol.* (5), 102 124.

加藤　勝治　(1950). 血液学研究法. 596 p. 東京；南山堂.

久保　達郎　(1953). 北大水産彙報　**4**, 138-148.

————　(1954). 同誌　**5**, 249-252.

————　(1955). 同誌　**6**, 201-207.

————　(1960). 同誌　**11**, 15-19.

黒田嘉一郎・李基寧　(1941). 植物及び動物 **9**, 781-794.

沼野井春雄　(1948). 動物の血液. 157 p. 東京；河出書房.

大野　磯吉　(1933). 鮭鱒彙報 **5**(2), 15-26; **5**(3), 13-25.

佐野　誠三　(1950). 魚と卵 (1950年度) (2), 15-22.

貝　類　脂　質

五十嵐 久尚・座間 宏一・高間 浩蔵
（北海道大学水産学部水産化学教室）

Fatty oil from Shell-fish

Hisanao IGARASHI, Kōichi ZAMA and Kōzō TAKAMA

Abstract

The fatty oil extracted from a chlamys, *Chlamys nipponensis* and a pecten, *Pecten yesoensis* had n_D^{20} 1.4889, 1.4851; acid no. 4.7, 10.8; saponification no. 186.8, 192.9; iodine no. 203.2, 226.5; unsaponifiable matter 33.4%, 5.28% and total sterols in unsaponifiable matter 15.09%, 4.92%, respectively.

The fatty acid composition of these oils was as follows: saturated, C_{12} 0.1, 0.1%; C_{14} 10.7, 6.0%; C_{16} 8.9, 10.1%; C_{18} 6.9, 5.6% and C_{20} 1.6% trace; unsaturated, C_{14} 2.8 (-2.0 H), 1.1% (-2.0 H); C_{16} 14.8 (-3.6 H), 17.6% (-4.1 H); C_{18} 19.5 (-4.8 H), 46.7% (-7.6 H); C_{20} 23.9 (-8.8 H), 12.2% (-8.0 H) and C_{22} 10.8% (−9.0H), ——, respectively.

緒　言

軟体動物の脂質，とくに貝類の脂質の性状及びステリンを主とする不鹸化物の性状については辻本[1)-4)]ら，外山[5)-16)]ら，上野[17)]ら，堀[18)-20)]ら及び増本[21)]ら，J.A. Lovern[22)] の報告がみられる。とくに外山らはアカザラ貝（*Chlamys farrei nipponensis* の変型）の剝身赤外線乾燥物より得たエーテル抽出物を更にアセトン処理して脂質を得，その固体酸，エーテル不溶性臭化物，ポリエチレン酸の含量を測定し，上野らは白土精製を行ったホタテ貝（*Pecten yessoensis*）油の性状，ならびにその混合脂肪酸の性状を調べ臭化物含量の多いことより恐らくはイワシ酸及びその同族体酸のグリセライドを含有しているのではないかと推定している。著者らは北海道周辺に産する貝類の脂質を検索するに当り，アカザラ貝及びホタテ貝を入手し得たのでその脂質を数種の溶剤により系統的に分画を試み，別報[23)]ではこれらの燐脂質の性状について報告したが，本報ではそれらのアセトン可溶性脂質の性状，とくに脂肪酸組成について述べる。

実　験

試料　1957 年 3 月下旬，北海道上磯海岸で採取したアカザラ貝の剝身 4920 g（約 250 個分）及び同年 7 月，北海道常呂で採取したホタテ貝の肝臓 3000 g（約 420 個分）を用いた。

分析法　沃素価は Wijs 法，不鹸化物中のステリンはヂギトニン沈澱法により測定した。

アセトン可溶性脂質の調製　試料調製に当り脂質抽出液等の溶剤の溜去，濃縮等の操作はすべて減圧下，炭酸ガス気流中で行った。概略は Fig. 1 に示す如く，夫々の試料磨砕物を 3 倍量のアセトンで室温抽出すること 4 回，アセトン抽出液を合一，濃縮後，エーテルに溶かし，これを 6 倍量のアセトン中に注入，氷室に保ちアセトン可溶性脂質と同不溶性脂質とに分画した。

脂肪酸組成の検索　先きに得たアセトン可溶性脂質を夫々常法通り苛性カリ・エタノール溶液で鹸

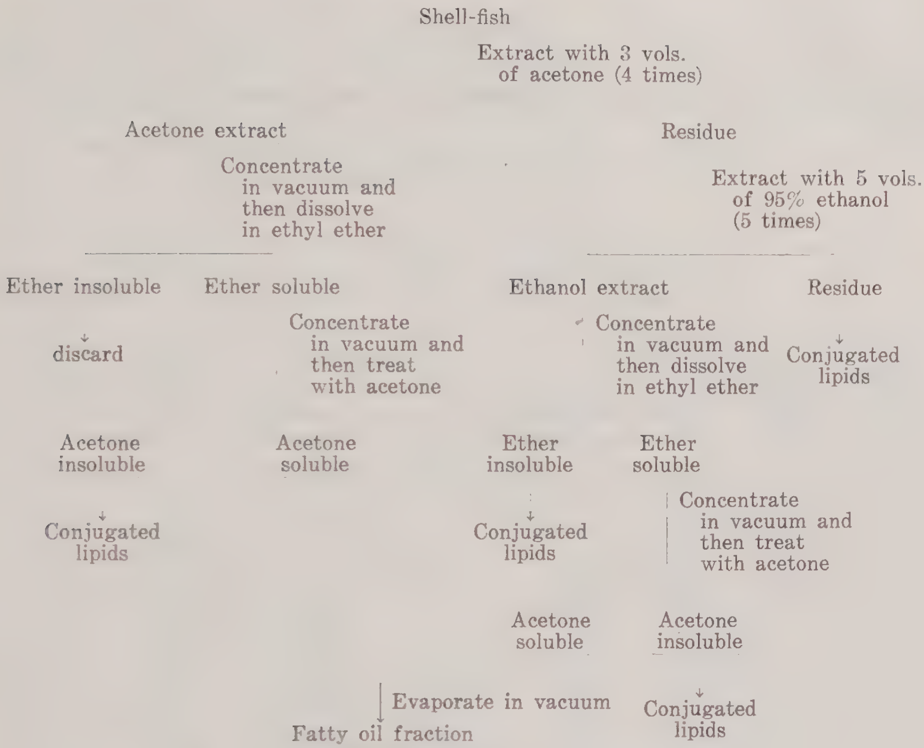


Fig. 1. Preparation of the fatty oil from the shell-fish

化し，不鹸化物をエーテルで抽出除去し，混合脂肪酸を得た。この一部をとり，鉛塩エタノール法による液体酸，固体酸分別を行った。残りの混合脂肪酸は常法通りメチルエステルとし，精密に分溜を行った。分溜の結果得られた各溜分をその 20 倍量のアセトンに溶解し，10 倍量の過マンガン酸カリを加え注意深く酸化した後，約 2 時間加熱還流して不飽和酸メチルを完全に酸化分解して酸性物質に変化させた後，アセトン溜去後，少量の水を加えこれに亜硫酸ガスを通し過剰の過マンガン酸カリ及びマンガン酸化物を還元後，これをエーテル抽出 3 回行い抽出液を合し，水洗後，炭酸カリ水溶液と振り酸性物質をカリウム塩として除去した後，このエーテル溶液を数回水洗，乾燥し，エーテルを溜去して定量的に飽和酸メチルエステルを得た。

Table 1. Properties of acetone soluble lipides obtained from the shell-fish

	Chlamys (shell free)	Pecten (liver)
Refractive Index n_D^{20}	1.4889	1.4851
Acid no.	4.7	10.8
Saponification no.	186.8	192.9
Iodine no.	203.2	226.5
Unsaponifiable matter (%)	33.4	5.28
Total sterols % in unsaponifiable matter	15.09	4.92

結 果 及 び 考 察

夫々の試料から調製したアセトン可溶性脂質の性状は Tabl 1 に示す。また，鹼化後得られた混合脂肪酸の性状については Table 2, 更に混合脂肪酸メチルエステルの分溜した結果を Table 3 (I) に

Table 2. Properties of mixed fatty acids and their methyl esters obtained from the acetone soluble lipides

	Chlamys (shell free)			Pecten (liver)		
	Neutr. no.	Sapon. no.	Iodine no.	Neutr. no.	Sapon. no.	Iodine no.
Mixed acid	198.2	—	209.7	205.0	—	236.4
Acid methyl ester	—	191.8	204.6	—	199.1	221.2

Table 3. (I) Fractional distillation of mixed fatty acids methyl esters

1. *Chlamys* (shell free)

Fraction	B.P. °C /3.5 mm Hg	Yield g	Yield %	Sapon. no.	Sapon. Equiv.	Iodine no.
1	-143	2.2	5.2	231.5	242.36	36.8
2	143-150	1.7	4.1	229.6	244.37	59.0
3	150-155	5.1	12.2	215.0	260.96	80.9
4	155-158	6.2	14.8	212.0	264.66	94.7
5	158-166	1.9	4.5	193.3	290.26	121.4
6	166-170	6.3	15.0	188.0	298.44	249.5
7	170-191	4.3	10.2	186.1	301.49	253.6
8	191-196	5.0	11.9	181.3	309.47	299.2
9	196-200	3.7	8.8	177.5	316.10	325.4
10	200-210	1.6	3.8	165.4	339.22	317.3
Residue	—	4.0	9.5	147.8	379.62	167.5

2. *Pecten* (liver)

Fraction	B.P. °C /3 mm Hg	Yield g	Yield %	Sapon. no.	Sapon. Equiv.	Iodine no.
1	-147	4.1	3.7	227.4	246.73	49.8
2	147-149	6.6	6.0	216.5	259.27	59.2
3	149-155	9.5	8.7	209.3	268.07	75.5
4	155-162	14.0	12.7	206.1	272.23	186.8
5	162-167	29.2	26.5	195.2	287.43	239.0
6	167-177	14.0	13.3	194.2	288.92	289.5
7	177-180	19.3	17.5	187.6	299.08	302.1
8	180-186	5.7	5.2	185.8	301.98	314.2
9	186-	1.4	1.3	184.5	304.11	326.6
Residue	—	5.6	5.1	175.3	320.06	184.7

示す。原溜分及び飽和酸メチルエステルの収量，鹼化当量及び沃素価より不飽和酸メチルエステルの収量，鹼化当量及び沃素価を求めると Table 3 (II) の如くなる。但し残溜分の不飽和酸エステルの鹼化当量は原溜分より得た脂肪酸の中和価より算出した鹼化当量を採用した。次に各溜分の飽和及び不飽和酸エステルが夫々相隣る偶数炭素数の脂肪酸よりなるものとして各溜分の脂肪酸組成を算出すると Table 4 の如くなる。なお，Table 4 に示す％は全脂肪酸エステル中の各脂肪酸エステルの％であるが近似的に全脂肪酸中の各脂肪酸の％と見て差支えない。

Table 3. (II) Saturated and Unsaturated methyl esters of the fatty oil

1. *Chlamys* (shell free)

Fraction	Saturated ester			Unsaturated ester				
	Yield (%)	Sapon. Equiv.	C_n of acid	Yield (%)	Sapon. Equiv.	Iodine no.	C_n of acid	Mean unsaturation, H
1	65.0	240.73	13.9	35.0	245.38	105.1	14.4	2.0
2	63.1	243.01	14.1	36.9	246.69	159.9	14.5	3.1
3	50.9	256.15	15.0	49.1	265.94	164.7	15.9	3.5
4	44.0	262.46	15.4	56.0	266.38	169.1	16.0	3.6
5	37.3	287.28	17.1	62.7	292.03	193.6	17.9	4.5
6	20.2	295.60	17.8	79.8	299.27	312.6	18.6	7.4
7	18.5	300.01	18.1	81.5	301.82	311.1	18.8	7.4
8	13.3	306.04	18.5	86.7	309.99	345.1	19.4	8.4
9	8.0	313.71	19.1	92.0	316.30	353.6	19.9	8.8
10	4.6	314.79	20.2	95.4	340.39	332.5	21.6	8.9
Residue	—	—	—	100.0	341.90*	—	21.7	—

* This saponification equivalent is calculated from neutral number 171.6.

2. *Pecten* (liver)

Fraction	Saturated ester			Unsaturated ester				
	Yield (%)	Sapon. Equiv.	C_n of acid	Yield (%)	Sapon. Equiv.	Iodine no.	C_n of acid	Mean unsaturation, H
1	55.6	241.49	13.9	44.4	253.18	111.9	14.9	2.2
2	54.3	252.58	14.7	45.7	260.21	129.5	15.9	2.7
3	48.6	262.81	15.4	51.4	273.04	146.9	16.4	3.2
4	24.1	266.00	15.7	75.9	274.21	246.9	16.6	5.3
5	16.7	283.40	16.9	83.3	288.23	286.9	17.7	6.5
6	13.6	288.01	17.3	86.4	289.06	335.1	17.9	7.6
7	12.5	294.23	17.7	87.5	299.77	345.2	18.7	8.2
8	8.2	296.81	17.9	91.8	302.45	342.3	18.9	8.2
9	2.3	299.70	18.1	97.7	304.21	334.2	19.0	8.0
Residue	—	—	—	100.0	315.50*	—	19.8	-

* This saponification equivalent is calculated from neutral number 191.9.

Table 4. Fatty acids composition of the shell-fish

	Saturated ester					Unsaturated ester				
	C_{12}	C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	C_{22}
Chlamys (shell free) %	0.1	10.7	8.9	6.9	1.6	2.8 (−2.0 H)	14.8 (−3.6 H)	19.5 (−4.8 H)	23.9 (−8.8 H)	10.8 (−9.0 H)
Pecten (liver) %	0.1	6.0	10.1	5.6	trace	1.1 (−2.0 H)	17.6 (−4.1 H)	46.7 (−4.6 H)	12.2 (−8.0 H)	

Note: The numbers in parenthesis are a measure of the unsaturation and indicate number of atoms of hydrogen required to saturate the fatty acid.

以上の結果から見ると，アカザラ貝剥身のアセトン可溶性脂質は飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸との組成比が大凡 3:7 であり，しかも C_{18} 以上の高度不飽和酸が全体の約 54% を占めていることが明らかとなった。

一方，ホタテ貝肝臓のそれについて見ると飽和酸と不飽和酸との比が大凡 2:8 で C_{18} 不飽和酸が約 47% を占めていることが明らかになった。

本報の終りに際し試料採取に当り御助力下さった北海道水産試験場，田中正午，猪川喜久男両氏に厚く感謝の意を表す。

文 献

1) 辻本満丸・小柳半二 (1934a). 工化 37, 175-181.
2) ————・———— (1934b). 同誌 37, 181-217.
3) ————・———— (1934c). 同誌 37, 998-1001.
4) ————・———— (1935). 同誌 38, 270-273.
5) 外山修之・高木徹 (1953). 日化 74, 929-931.
6) Toyama, Y., Takagi, T. and Tanaka, T. (1953). *Bull. Chem. Soc. Japan* 26, 154-156.
7) 喜多稔・仲巌・外山修之 (1950). 日化 71, 21-22.
8) 外山修之・田中立夫 (1953). 同誌 74, 1016-1018.
9) ————・高木徹 (1954a). 同誌 75, 1238-1241.
10) ————・———— (1954b). 同誌 75, 1241-1243.
11) ————・———— (1955). 同誌 76, 240-243.
12) ————・田中立夫・前田雄男 (1955). 同誌 76, 1155-1159.
13) ————・———— (1956a). 同誌 77, 636-639.
14) ————・———— (1956b). 同誌 77, 756-759.
15) 高木徹・外山修之・前田雄男 (1957). 同誌 78, 88-92.
16) ————・———— (1957). 同誌 78, 93-96.
17) 上野誠一・久世信雄 (1931). 工化 34, 266-270.
18) 堀太郎・細田忠男 (1953). 日化 74, 515-518.
19) ————・———— (1954). 同誌 75, 1144-1146.
20) Hori, T. (1956). *Memoirs of the Faculty of Liberal Arts and Education Shiga Univ.* 5, 111-137.
21) 増本政次郎 (1941). 日化 62, 547-551.
22) Lovern, J.A. (1938). *Biochem. J.* 32, 1214-1224.
23) 座間宏一・羽田野六男・五十嵐久尚 (1960). 日水誌 26, 917-920.

水産動物筋肉の酵素化学的研究

3. 好気的解糖作用に及ぼす各種阻害剤の効果について

柴　田　猛

（北海道大学水産学部水産生物化学教室）

Enzymatic Studies on the Muscle of Aquatic Animals

3. The effect of various inhibitors on aerobic glycolysis of fish (*Cyprinidae*) and squid (*Ommastrephes sloani pacificus*) muscle

Takeshi SHIBATA

Abstract

A study was made of the effect of various inhibitors on aerobic glycolysis in fish and squid muscle extract.

(1) Jodoacetate inhibits lactate and pyruvate formation and also fructose diphosphate utilization.

(2) There is no effect on the end product formation of glycolysis by malonate, 2,4-dinitrophenol and cyanide.

(3) By fluoride lactic acid and pyruvic acid production is inhibited.

(4) Arsenate exerts a slight acceleration on the formation of lactate and pyruvate.

(5) The effect of arsenite is the same as that of arsenate on pyruvate formation in squid, whereas lactate formation in fish is fairly inhibited.

(6) The role of these inhibitors in the multi-enzyme system is discussed.

緒　　言

前報[1]に於て，好気的解糖作用の最終産物としてコイでは乳酸，イカでは焦性ブドウ酸が蓄積することを報告した。両者共に，fructose-diphosphate（FDP）が存在していなければ，ATP，DPN の補助因子を充分に加えても，乳酸及び焦性ブドウ酸は生成しない。この一連の研究は解糖系の limiting factor [illegible] FDP [illegible] 終産物の蓄積に及ぼす影響を述べる。これより得られた複雑な複合酵素系の kinetics とその反応位置の解明は limiting step の手掛りを与えるだろう。

また筋肉酵素製品の抽出の際，抽出条件によっては，ミトコンドリヤ系の顆粒やその破片がチトプラズマの解糖系の酵素と混在する恐れがある。特にミトコンドリヤには主な呼吸系酵素がすべて含まれているので，解糖作用とは相反した作用を行う。Pasteur 効果 Crabtree 効果がその例であるが，その呼吸系の酵素作用の効果をもみるために，呼吸阻害剤も含めて選ばれた。特にイカの焦性ブドウ酸の蓄積（軟体類の特徴とも思われる）が TCA サイクルの回転を促進するものか，オクトピンの合成[2]，ある種のプテリンの合成[3] 又はその他の径路に利用されるものかどうかについての考察の一助になるであろう。

実　　　験

試料として市販の養殖コイ・フナとスルメイカを用いた。酵素製品の抽出条件，反応組成液，操作及び測定法は前報[1]と同様に行った。阻害剤は市販品をそのまま使用した。砒酸は砒酸ソーダを pH 7.6 に中和し，亜砒酸は無水亜砒酸を NaOH でとかし，pH 7.6 に中和して使用した。

結　　　果

ヨード酢酸の効果——解糖系の特異的阻害剤であるモノヨード酢酸の効果が第1表及第2表に示される。コイ，イカ共に最終産物の蓄積の阻害がみられる。即ち乳酸は 60 分反応で 82%，焦性ブドウ酸は 50% 阻害される。又 10^{-2}M では焦性ブドウ酸の生成が 75% 阻害される。ヨード酢酸が Baldwin[5] の如くトリオーズ燐酸脱水素酵素を阻害するなら，トリオーズ燐酸が蓄積する[6]筈であるが，FDP の利用にも阻害がみられ，特にコイでは阻害が著しい。コイでは 60 分で 67%，イカでは 30% である。著者のコイ筋肉アルドラーゼの実験[7]によると，コイアルドラーゼもヨード酢酸によって阻害されることが認められている。しかしイカでは FDP の阻害が少く 10^{-4}M では 10%，10^{-2}M では 10^{-3}M と変らない。

ディニトロフェノールの効果——酸化燐酸化の uncoupler としてのこの阻害剤は高エネルギー燐酸化合物の形成を阻止する。FDP 以下の解糖系に於ては ATP がつくられるので，この燐酸受容体の確保のために行われた。その結果は第1表及び第2表に示される。コイに於ては乳酸の生成に効果なく，又 FDP にも，最初の 20 分を除いては効果がなかった。イカでは FDP の変化には全く効果がなく，焦性ブドウ酸の生成が僅かに増加している。この原因は考察で述べる様に少くとも ADP の確保のためではない。恐らく別の原因によるものであろう。

マロン酸の効果——TCA サイクルの特異的阻害剤のマロン酸の効果が第 3 表及び第 4 表に示される焦性ブドウ酸が TCA サイクルに利用されるのを防ぐために使用した。イカに於ては FDP や焦性ブドウ酸に対して変化なく，また濃度による効果もない。コイの場合は反応初期に於て FDP，焦

Table 1. Effect of jodoacetate and dinitrophenol on aerobic glycolysis in carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system[4], except that 1.9 μ moles of FDP and 0.96 mg extract protein per ml of incubation mixture were used. Incubation, 30°.

+ and − represent increase and decrease, respectively

The values are expressed as μ moles per ml of incubation mixture.

Inhibitors	Control		Jodoacetate		Dinitrophenol	
Concentration (M)	0		10^{-3}		10^{-4}	
Incubation time	−FDP	+Lactate	−FDP	+Lactate	−FDP	+Lactate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
20	0.58	1.42	0.59	0.18	1.12	1.55
40	1.36	1.73	0.46	0.28	1.34	1.64
60	1.40	1.71	0.46	0.31	1.52	1.73
80	1.42	2.13	0.46	0.31	1.60	2.08
120	1.61	2.44	0.56	0.31	1.63	2.44

Table 2. Effect of jodoacetate and dinitrophenol on aerobic glycolysis in squid muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that pyruvate and fluoride were omitted and 2.8 μ moles of FDP and 0.50 mg extract protein per ml of incubation mixture were used. Incubation, 30

Inhibitors	Control		Jodoacetate		Dinitrophenol	
Concentration (M)	0		10^{-3}		1.3×10^{-4}	
Incubation time	−FDP	+Pyruvate	−FDP	+Pyruvate	−FDP	+Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ mole
20	2.00	1.40	1.10	0.63	2.00	1.69
40	2.11	1.54	1.39	0.76	2.11	1.85
60	2.15	1.54	1.51	0.77	2.13	1.86
80	2.15	1.51	1.67	0.81	2.15	1.84
100	2.21	1.49	1.77	0.80	2.16	1.86

Table 3. Effect of malonate on aerobic glycolysis in carp muscle extract

Experimental conditions were the same as in Table 1, except that 2.8 μ moles of FDP and 0.89 mg extract protein were used.

Concentration (M)	control			10^{-3}		
Incubation time	−FDP	+Lactate	−Pyruvate	−FDP	+Lactate	−Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
20	1.34	1.16	1.46	1.00	0.99	1.08
40	1.65	1.88	2.26	1.33	0.89	1.84
60	1.78	1.88	2.83	1.50	1.69	2.41
80	1.92	2.05	3.13	1.56	1.69	2.78
120	1.95	2.32	3.26	1.83	2.49	3.20

Table 4. Effect of malonate on aerobic glycolysis in squid muscle extract

Experimental conditions were the same as in Table 2, except that glucose, moreover, was omitted.

Concentration (M)	Control		0.5×10^{-3}		0.5×10^{-2}		0.5×10^{-1}	
Incubation time	−FDP	+Pyruvate	−FDP	+Pyruvate	−FDP	+Pyruvate	−FDP	+Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
20	2.52	1.39	2.44	1.45	2.52	1.48	2.52	1.29
40	2.70	1.72	2.53	1.86	2.69	1.93	2.52	1.73
60	2.70	1.81	2.61	1.93	2.69	1.98	2.69	1.83
80	2.70	1.87	2.57	1.93	2.69	1.95	2.72	1.92
120	2.76	1.76	2.59	1.91	2.69	1.94	2.76	1.89

性ブドウ酸，乳酸の変化に対してやや阻害的に作用するが，120 分では殆ど何れも効果がなくなっている。

青酸の効果——酸化系の呼吸阻害剤の青酸の効果がコイの場合に行われた。結果は第 5 表に示される。何れについても著しい効果が表われていない。青酸と焦性ブドウ酸が結合物をつくるために[8] 測定の際，焦性ブドウ酸の絶対値が低くなるため，イカに於て青酸阻害の実験を行わなかった。

Table 5. Effect of cyanide on aerobic glycolysis in carp muscle extract

Experimental conditions were the same as in Table 1, except that 3.5 μ moles of sodium pyruvate and 0.91 mg extract protein were used.

Incubation time	Control			Cyanide (10^{-3} M)		
	−FDP	+Lactate	−Pyruvate	−FDP	+Lactate	−Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
20	0.76	0.89	0.66	0.86	0.85	0.46
40	1.06	1.60	1.40	1.06	1.16	1.00
60	1.11	1.69	1.77	1.12	1.47	1.30
80	1.12	1.87	1.90	1.32	1.86	1.70
120	1.22	2.09	2.27	1.42	1.87	2.06

弗化物の効果——ATP ase の阻害剤として弗化物を用いた。結果は第 1 図及び第 2 図で示される。イカに於ては 10^{-3}M で焦性ブドウ酸が 45% 阻害されるが，10^{-4}M では効果がない。しかし

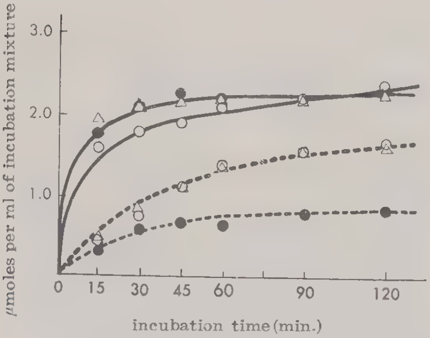


Fig. 1

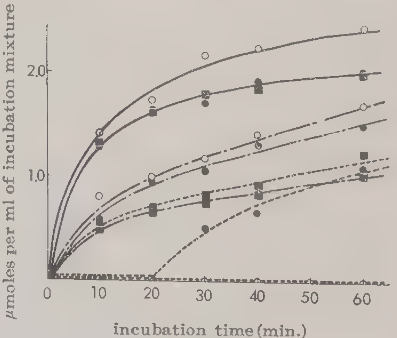


Fig. 2

Fig. 1. Effect of fluoride on aerobic glycolysis in squid muscle extract

The standard medium contained 40 μ moles of phosphate buffer (pH 7.6), 6 μ moles of $MgCl_2$, 0.2 μ mole of DPN, 3.5 μ moles of FDP and 0.49 mg extract protein per ml of incubation mixture

—— — : decreased FDP; ……… : increased pyruvate. ○ : no added fluoride; △ : 10^{-4} M sodium fluoride; ● : 10^{-3} M fluoride

Fig. 2. Effect of fluoride on aerobic glycolysis in crucsian carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that 40 μ moles of Tris buffer (pH 7.6), 4.9 μ moles of FDP, 3.5 μ moles of sodium pyruvate and 0.70 mg extract protein per ml of incubation mixture were used without glucose.

−−−−− : increased lactate; ……… : decreased pyruvate; ———— : decreased FDP. ○ : no added fluoride; ● : 2×10^{-2} M sodium fluoride; ■ : 4×10^{-2} M fluoride

3×10⁻²M では完全に阻害される。フナの場合も乳酸の生成が 2×10⁻²M では 13%，4×10⁻²M では 36% 阻害されている。FDP は両濃度とも 20% の阻害を示す。しかし焦性ブドウ酸の減少は対照よりも増加しており，加えた焦性ブドウ酸の 35% が利用されている。これは Lepage の解糖系に弗化物が ATP ase 阻害剤として用いられているがこれが又 enolase を阻害するので焦性ブドウ酸がつくられない。そこで triose phosphate dehydrogenase によって生じた DPNH を利用させるために，焦性ブドウ酸を加えて乳酸の生成を強化している。もし enolase が完全に阻害されると焦性ブドウ酸の減少と対応して乳酸が生成される。対照では FDP より焦性ブドウ酸が供給されるために減少をみせず，その量は乳酸量と対応する。弗化物の存在では，酸化還元の助酵素の回転が既存の焦性ブドウ酸と乳酸脱水素酵素に依存することになり，焦性ブドウ酸の減少をもたらす。Lepage 系の弗化物の濃度は 3×10⁻²M で，4×10⁻²M 以上の高濃度にすることが出来なかった。又弗化物は乳酸脱水素酵素も阻害する。イカで阻害濃度がフナよりも低く，乳酸脱水素酵素の活性も小さいので，恐らく enolase の阻害に対応していると思われる。

砒酸の効果——燐酸の不可逆的置換物としての砒酸の効果は第 3 図及第 4 図に示めされる。イカでは，FDP の利用も焦性ブドウ酸の生成も短時間の反応では増加する傾向にある。しかし反応時間を長くすると，(例えば，120分) どの濃度も一致した平衡点が得られる。促進の程度は焦性ブドウ酸で 30 分 10⁻²M で対照の 2.6 倍になる。フナでは Lepage の反応系に弗化物が存在しているのでやや複雑になるが，弗化物が存在しないときには，イカと同様に FDP と乳酸の生成が促進され，共に対照の 1.3 倍になる。しかし焦性ブドウ酸の減少の割合は少くなり，60 分で対照の 50% しか利用されていない。残りの部分には FDP より補給された部分が含まれる。しかし弗化物の存在で対照と変りなく，恐らく enolase の部分で支配されるか，効果が弗化物に優先されるものかも知れない。砒酸の阻害は無機燐酸との比によって変るが[9]，燐酸緩衝液の濃度は反応溶液 1 ml 当り 2 μ mole で，FDP 及び endogenous の無機燐酸が 4 μ mole であるから，殆ど解糖系だけの影響と思われる。トリス緩衝液を用いても効果は変らない。

亜砒酸の効果——酸化還元反応による亜砒酸の効果が第 5 図及び第 6 図に示される。イカに於ては，作用型式が砒酸の場合と類似しており，焦性ブドウ酸は 60 分 10⁻²M で対照の 1.35 倍になる。FDP

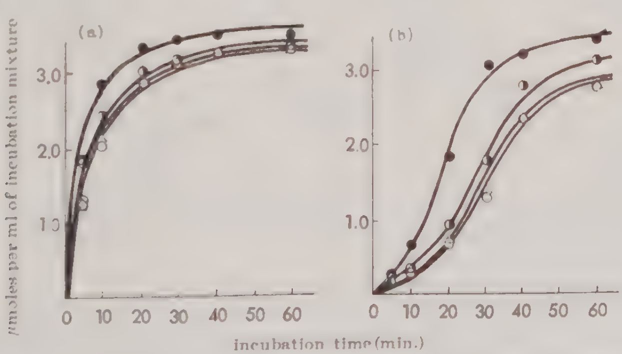


Fig. 3. Effect of arsenate on aerobic glycolysis in squid muscle extract

Experimental conditions were the same as in Fig. 1, except that 3.7 μ moles of FDP and 0.40 mg extract protein were used. (a) shows amount of FDP decreased (b) shows amount of pyruvate formed

○ : no added arsenate; △ : 10^{-4} M sodium arsenate; ◐ : 10^{-3} M arsenate; ● : 10^{-2} M arsenate

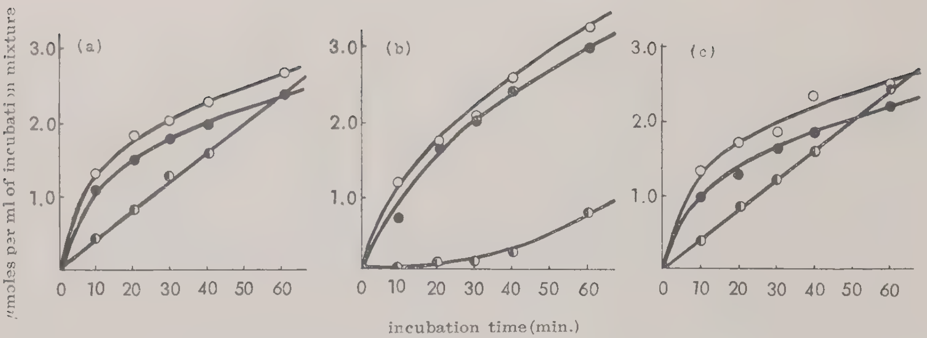


Fig. 4. Effect of arsenate and fluoride on aerobic glycolysis in crucsian carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that 4.7 μ moles of FDP, 3.5 μ moles of sodium pyruvate, 10 μ moles of sodium fluoride or/and 8 μ moles of sodium arsenate and 0.90 mg extract protein per ml of incubation mixture were used without glucose. (a) for fluoride (b) for arsenate (c) for fluoride and arsenate

○ : decreased FDP; ● : increased lactate; ◐ : decreased pyruvate

の利用は全く変化がない。フナではやや様式を異にし，FDP では 10^{-3}M までは効果がないが，10^{-2}M で 10% だけ阻害される。しかし乳酸の生成には可成りの阻害効果をみせ，10^{-2}M で 60% 阻害がみられる。この系では焦性ブドウ酸の添加による強化は行われていないので，イカより考え，乳

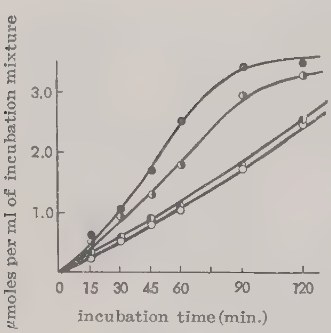


Fig. 5

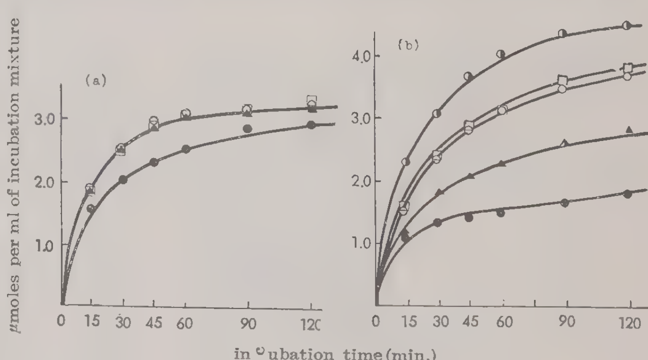


Fig. 6

Fig. 5. Effect of arsenite on pyruvic acid formation in squid muscle extract

Experimental condition were the same as in Fig. 1, except that 4.9 μ moles of FDP and 0.49 mg extract protein were used.

○ : no added arsenite; ◐ : 10^{-4} M sodium arsenite; ◑ : 10^{-3} M; ● : 10^{-2} M

Fig. 6. Effect of arsenite on aerobic glycolysis in crucsian carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that 3.6 μ moles of FDP, 0.90 mg extract protein per ml of incubation mixture were used without glucose, pyruvate and fluoride. (a) shows amount of FDP decreased. (b) shows amount of lactate formed.

◑ : complete Lepage's system (but without glucose only); □ : no added arsenite; ○ : 10^{-4} M arsenite; ▲ : 10^{-3} M; ● : 10^{-2} M

酸脱水素酵素の段階で阻害されていると想像される。

考　　　察

好気的な呼吸系と嫌気的な解糖系の相互作用について多くの研究がなされているがその機構については多様に思われる。しかしそのどちらかの系を阻害する事により他の系の作用を円滑に進める事が可能である。この推定を基礎にして，呼吸系を阻害する試薬を用いる事により，（恐らくこれらの阻害剤によって嫌気的な条件が誘導される）解糖系への効果をしらべたが，イカ，コイ及びフナの等張抽出液の解糖系には著しい効果を与えなかった。解糖系を妨害する呼吸系の酵素が存在していないと [illegible] endogenous [illegible]、予備実験 [illegible]、コハク酸脱水素酵素活性がこの抽出条件では表われない事，酵母ヘキソキナーゼとブドウ糖と ATP の共存による ADP の供給も効果がない事，又嫌気的（脱気法）にも差がなかった事等がいっそうこの推定をつよめる。しかし後述の如く他の酸化系が存在する可能性のある証拠もある。

沃度酢酸阻害でイカがコイと違う事が興味があり，FDP の利用がコイより多い。アルドラーゼに阻害作用がないか，又 triose phosphate dehydrogenase が阻害されても，イカでは α-グリセロ燐酸への径路で進み得る[10]。現在トリオーズ燐酸の蓄積を研究中である。ディニトロフエノールは砒酸及 [illegible] ATP 形成には阻害がないと推定される。マロン酸の効果も反応初期では阻害的に作用しているが，Usuki & Okamura[6] のカキの鰓の実験で焦性ブドウ酸が半分に減じていると報告している。推定と矛盾する結果だが，反応時間を長くすると対照と一致することより，TCA サイクルの阻害でないと推定される。又青酸はチトクローム系の阻害が主な役目で，黄色酵素系の水素移動系には余り効果がない。これにはアザイドがあるが，この効果に興味がある。それはこれらの反応系を長時間作用させると，生じた乳酸及び焦性ブドウ酸が消失 [illegible]

弗化物は ATP ase と enolase の阻害を行うが，少くとも ATP ase 作用がこの抽出液中に考えられない。それは，イカでは ATP を加えていないし，又 ATP の効果も少いし，ADP の効果もない事より推定される。enolase だけの阻害ならイカでは 3-Phosphoglyceric acid の蓄積がみられる [illegible] 研究中 [illegible] Usuki & Okamura[6] の実験によるとこの燐酸化合物が蓄積されることを報告している。フナ及びコイではやや様 [illegible] Balázs[11] [illegible] 在する脳の懸濁液の実験で弗化物が解糖系の好気阻害を増加すると述べている。第 6 図の (b) にみられる様に，著者の実験では弗化物及び焦性ブドウ酸の存在しないときの方が乳酸の形成が低下している。コイ，フナに常にみられる現象であるが，弗化物の存在でも，焦性ブドウ酸の減少が乳酸の形成量よりも多く 1 対 1 の対応をしめさない。焦性ブドウ酸及び乳酸の酸化酵素の存在を暗示するかも知れない。

砒酸の阻害効果は phosphoglyceryl arsenate の砒酸加水分解とされているが，これが起ったとしても還元型の助酵素がつくられ，又これらの系で，ADP-ATP の共軛関係が内生的の濃度ですみ，ADP に余り関係しないので阻害効果がみられないと考えられる。Balázs[11] 系も砒酸に効果がなかった事が報告されている。促進の原因は砒酸の結合が燐酸より早く，又 kinase の回転が arsenolysis の速度よりも遅いためであろう。

亜砒酸の効果は砒酸の作用といくらか異なる。Crane & Lipmann[9] は反応中で砒酸が亜砒酸に還元され，ケト酸の酸化の阻害をおこすと報告している。亜砒酸は砒酸と異なり，酸化還元によって作

用すると思われる。Gibbs & Calo[12] によると，砒酸で阻害される triose phosphate dehydrogenase 又 3-phosphoglyceric acid kinase が亜砒酸で阻害されないことを認めている。しかし亜砒酸は pyruvic acid oxidase[13] もしくはケト酸の酸化的脱炭酸酵素に敏感である。イカには前述の様にその様な酵素系の存在が推定されるから焦性ブドウ酸の消費が少くなったために，亜砒酸又砒酸の促進効果として認められるのかも知れない。又コイの焦性ブドウ酸の減少が大きいこともこの酵素の存在を仮定すれば説明し得る。亜砒酸の効果が焦性ブドウ酸の増加をもたらすことが，バッタの飛翔筋で *in vivo* に報告されている[14]。普通これらの酵素系はミトコンドリヤ区分に含まれるが，著者の反応系で確めていない。フナの場合の乳酸脱水素酵素の阻害も亜砒酸の還元によると思われる。FDP の利用の減少もアルドラーゼ酵素部分の一部の還元に帰せられる。コイ筋肉アルドラーゼがシステインによって阻害される事[7] 及び亜砒酸の阻害が dimercaptan によって回復される[12] ことより推定される。何れの阻害も phosphorylation に関係するので阻害機構解明には更に phosphorylation を測定せねばならない。

阻害剤は多かれ少かれ他の酵素にも影響する。複合系の特異な阻害剤の存在が少い。最近乳酸脱水素酵素に作用する特異的阻害剤 oxamic acid がカン細胞の解糖系に使用されているが[15]，焦性ブドウ酸と構造が類似して拮抗阻害を行う。それで焦性ブドウ酸が存在するときは阻害機構の解明が複雑となる。今ここで使用された亜砒酸が解糖系中に於いて乳酸脱水素酵素を特異的に阻害するとすれば，この系の解明に役立つであろう。

要 約

コイ，フナ及びイカの筋肉抽出液を用いて，FDP を基質にし解糖系の最終産物の蓄積に及ぼす各種阻害剤の効果を調べた。ヨード酢酸は乳酸，焦性ブドウ酸の形成を阻害する許りでなく FDP の利用も阻害される。酸化的燐酸化の uncoupler のディニトロフェノール，TCA サイクルの阻害剤のマロン酸，呼吸阻害の青酸は何れも大きな効果はなかった。弗化物を ATP ase の阻害剤として用いたが，焦性ブドウ酸の形成が阻害されるが，助酵素の酸化還元には関与しない。イカではコイ等よりも阻害され易い。砒酸は最終産物の蓄積をいくらか促進する。亜砒酸はイカでは砒酸と同様であるが，コイ及びフナでは乳酸の形成が阻害される。乳酸脱水素酵素の阻害と考えられる。これらの事実より抽出液中の呼吸系の酵素の存在の有無と阻害機構が考察された。

本研究に当り，終始変らぬ御指導と援助をいただいた吉村克二教授に対して深く感謝いたします。

文 献

1) 柴田猛・吉村克二 (1960). 日水誌 **26**, 294.

2) Van Thoai, N. & Robin, Y. (1959). *Biochem. Biophys. Acta* 35, 446.

3) 妻木徳一 (1959). 化学と工業 12, 605.

4) Lepage, G.H. (1951). *in W. W. Umbreit et al, Mannometric Techniques and Tissue Metabolism*. 143 p. Minneapolis; Burgess Publishing Co.

5) Baldwin, E. (1953). 江上不二夫外訳 動的生化学. 327 p. 東京; 岩波書店.

6) Usuki, I., & Okamura, N. (1956). *Sci. Rep.Tôhoku Univ. (Biol.)* 22, 225.

7) 柴田 猛 (1958). 北大水産彙報 9, 218.

8) Laidler, K. (1954). *Introduction of the Chemistry of Enzymes*. 85 p. New York; Mc-Graw-Hill Book Co., ing.

9) Crane, R.K. & Lipmann, F. (1953). *J. Biol. Chem.* **201**, 235.
10) 吉村克二・柴田　猛 (1961). 昭和 36 年度日本水産学会秋季大会に発表.
11) Balázs, R. (1959). *Biochem. J.* **72**, 561.
12) Gibbs, M. & Calo, N. (1960). *Biochem. Biophys. Acta* **44**, 341.
13) Reiss, O.K. & Hellerman, L. (1958). *J. Biol. Chem.* **231**, 557.
14) Kubista, V. (1958). *Biochem. Z.* **330**, 315.
15) Papaconstantinou, J. & Colowick, S.P. (1961). *J. Biol. Chem.* **236**, 278, 285.

CHEMICAL STUDIES ON THE MEAT OF ABALONE
(*Haliotis discus hannai* Ino)—I

Eiichi Tanikawa and Jiro Yamashita*
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

There are about 90 existing species of abalones (*Haliotis*) in the world, of which the distribution is wide, in the Pacific, Atlantic and Indian Oceans.

Among the habitats, especially the coasts along Japan, the Pacific coast of the U.S.A. and coasts along Australia have many species and large production.

In Japan from ancient times abalones have been used as food. Japanese, as well as American, abalones are famous for their large size. Among abalones, *H. gigantea* ("Madaka-awabi"), *H. gigantea sieboldi* ("Megai-awabi"), *H. gigantea discus* ("Kuro-awabi") and *H. discus hannai* ("Ezo-awabi") are important in commerce.

Abalone is prepared as raw fresh meat ("Sashimi") or is cooked after cutting it from the shell and trimming the visceral mass and then mantle fringe from the large central muscle which is then cut transversely into slices. These small steaks may be served at table as raw fresh meat ("Sashimi") or may be fried, stewed, or minced and made into chowder.

A large proportion of the abalones harvested in Japan are prepared as cooked, dried and smoked products for export to China.

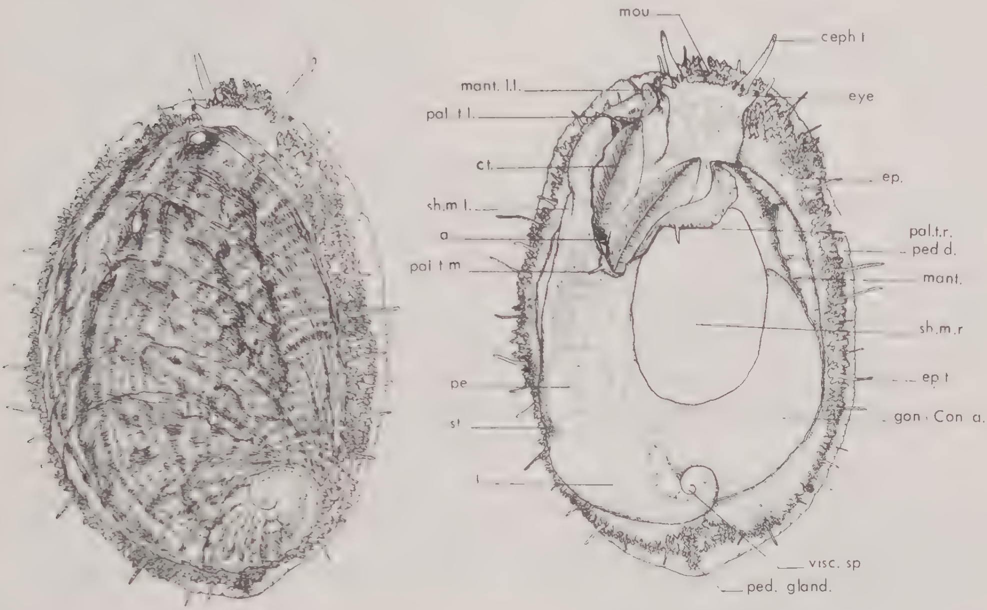
Dried abalone has been used as an elixir of life as well as dried sea cucumber from ancient times in China. The abalone is also prepared for canning, after its removal from the shell, by cutting away the visceral mass.

However, there are few chemical studies on the meat of abalone[1], especially on the protein of the meat.

The authors have studied the fundamental chemical properties of the meat of abalone, in order to solve technical problems in the procedures of processing various kinds of manufactured merchandise.

For this study *Haliotis discus hannai* ("Ezo-awabi") was employed. *H. discus hannai* resembles *H. gigantea* ("Madaka-awabi") in appearance, but the former differs from the latter in the thin shell, sharp peristome and long oval shape of the shell, on the surface of which 3–4 lines of spiral lip appear in young stage and the greater height of the respiratory pore. The color of the surface

*Present adress: Laboratory of Daiwa Can Co. Ltd., Shimizu, Shizuoka Prefecture, Japan.



(A) (B)

Fig. 1. Appearance of abalone (*H. discus hannai* INO)

a.; Anus
ceph. t.; Cephelic tentacles
ct.; Ctenidium
ep.; Epipode
ep. t.; Epipodial tentacles
eye; Eye
gon.; Gonad
(Con. a.; Conical appendage)
l.; Liver
mant.; Mantle
mant. l. l.; Anterior left lobe of mantle
mou.; Mouth
pal. t. l.; Left pallial tentacle
pal. t. m.; Median pallial tentacle
pal. t. r.; Right pallial tentacle
pe.; Pericardial cavity
ped. d.; Dorsal surface of foot
ped. gland.; Pedal gland
sh. m. l.; Lelt shell muscle
sh. m. r.; Right shell muscle
st.; Stomach
visc. sp.; Visceral spire

shell of *H. discus hannai* is dark green or brown while the interior of the shell is very brilliantly colored mother-of pearl having green color. The long diameter of the shell is about 100 mm, the short diameter is about 65 mm, and the height is about 20 mm.

H. discus hannai has been considered to be one variety of *H. gigantea*. But recently it has come to be considered to be different species from *H. gigantea*. The distribution of *H. discus hannai* is wide: Honshu, Pacific coasts of Tohoku district, western coasts of Hokkaido, estern coasts of Korea and seas around Sagalein, Kuril Islands, Kamchatka Peninsula, Aleutian Islands and Alaska Peninsula.

The spawning season of *H. discus hannai* is September~October in Iwate

and Aomori Prefectures of Honshu, and September~November in southern waters of Hokkaido. This species lives on rocks in shallow seas, to the depth of 13 fathoms. The molluscs creep about on the bottom feeding on kelp and other seaweeds.

In Iwate Prefecture, it is permitted to take abalone above 10 cm in size during a definite period from autumn to winter. Those limits are set for conserving the source. The size of the shell of the old abalone sometimes reaches to 180~200 mm. The principal food of the abalone is brown algae or red algae. Sometimes they eat green algae. Other foods which have been detected in the stomach of the abalone are diatoms, copepoda, cirripedia, chaetopoda, and hydrozoa.

I. SEASONAL VARIATION OF CHEMICAL COMPOSITION OF THE ABALONE MEAT

In order to ascertain seasonal variation of chemical composition, the abalone meat was analyzed quantitatively once a month. The living abalones (*H. discus hannai*) of which the size was almost equal (long diameter of the shell greater than 10 cm), were used as samples.

1) Experimental method

Living abalones (*H. discus hannai*) which were caught in the seas near Hakodate, Hokkaido, were used. The body was cut from the shell, crushed homogeneously and used as sample. Estimated items were water content, protein, fat, ash, and glycogen.

2) Results

The results obtained are shown in Figs. 2 and 3.

As seen in Fig. 2, the amount of water-content in the meat decreased gradually from June to the minimum (72.1%) in August. Thereafter it increased gradually to 77.9% in October. In December it decreased again and then increased. Similarly to the amount of water-content the amount of ash decreased rapidly from June to August and showed the minimum value (1.2%) in August. It increased in November, but decreased again in December, and thereafter it increased gradually. Therefore, the curves of the variations in amounts of water-content and ash are similar.

But the variations of the total amount of nitrogen, amount of protein-nitrogen and the amount of crude fat were seen to be the reverse. The total amount of nitrogen increased gradually from June to the maximum amount (3.1%) in August and September, and then decreased in October; thereafter the amount was almost uniform. The amounts of protein-nitrogen and crude fat exhibited almost the same tendency of variation, though, of course, the amounts were different.

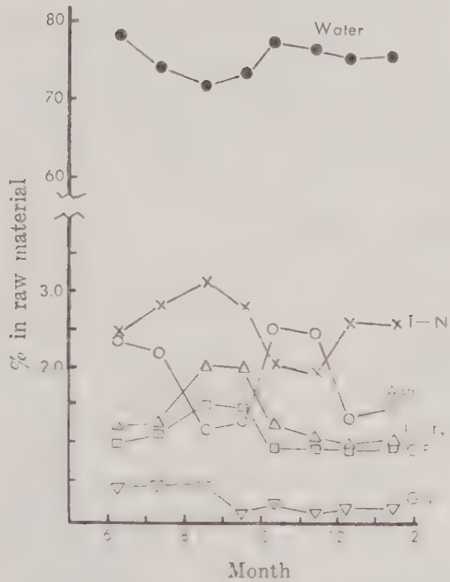


Fig. 2. Seasonal change of proximate composition of *H. discus hannai* meat in raw material

—●— Water-content
—○— Ash
—×— Total N
—△— Protein N
—□— Crude fat
—▽— Glycogen

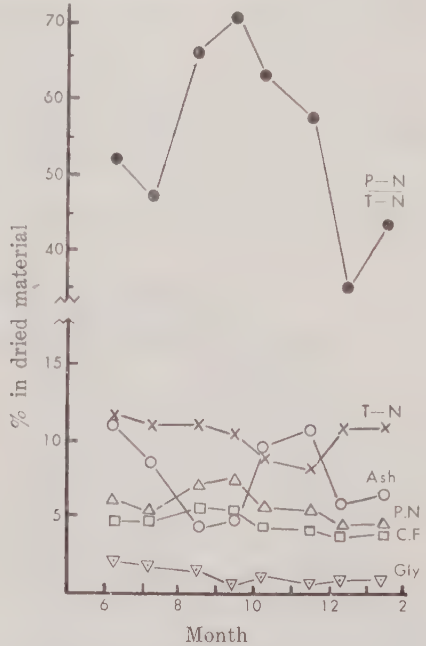


Fig. 3. Seasonal change of proximate composition of *H. discus hannai* meat in dried material

—●— Protein-N/Total-N (%)
—○— Ash
—×— Total-N
—△— Protein-N
—□— Crude fat
—▽— Glycogen

As to the amount of glycogen, it showed the maximum in July and August, but it decreased in September or November.

As seen in Fig. 3 showing the seasonal change of proximate composition of abalone in dried matter, the total amount of nitrogen in the dried matter decreased from June to November, but it rapidly increased in December.

The amount of protein-nitrogen in the dried matter showed the maximum (7.6%) in August and September with decrease to 4% in December. Therefore the ratio of the amount of protein-nitrogen to the total amount of nitrogen showed the maximum (70%) in September, and the minimum (36%) in December. The amount of fat in the dried matter registered generally no remarkable change but it showed somewhat of decrease from October to December. The amount of glycogen showed no remarkable change but it decreased more or less in September.

In view of the results above reported, the proximate composition of abalone

meat is principally different according to the fishing period. Of course, it will be different according to the kinds of abalone and fishing places.

As seen in the results obtained, the chemical composition changed remarkably from September to October. This is considered to be a reserving period for the spawning. After the spawning the percentages of chemical components generally temporarily decreased, but with the lapse of the time, the amounts recovered.

II. NITROGEN DISTRIBUTION OF ABALONE MEAT

1. Nitrogen distribution of raw abalone meat

1) Experimental method

Meat of fresh abalone caught near Hakodate, was removed from the shell. The visceral mass was discarded and mantle fringe was also trimmed. The large central muscle was minced and employed as the sample.

Five g of the minced abalone meat was hydrolyzed with 20% HCl for 48 hours. A part of the hydrolyzate was used for the detection of the amino acids by two-dimensional paper chromatographpy, and the rest was used for the determination of the nitrogen distribution by Van Slyke's method.

As the solvent in the paper chromatography, phenol containing 10% water

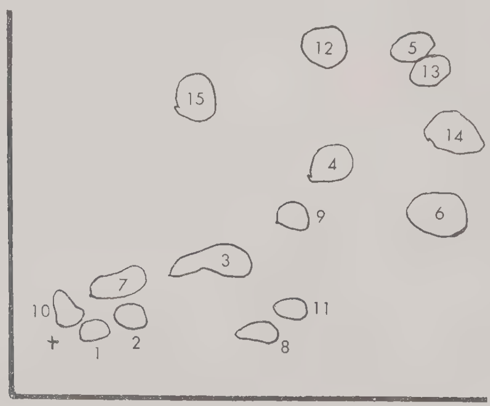


Fig. 4. Paper chromatograms of amino acids in *H. discus hannai* meat (Hydrolysis with 20% HCl)

1. Aspartic acid
2. Glutamic acid
3. Alanine
4. Valine
5. Phenylalanine
6. Proline
7. Serine
8. Lysine
9. Hydroxyproline
10. Cystine
11. Histidine
12. Tyrosine
13. Leucine
14. Methionine
15. 3-5-diiodotyrosine

was first used, and then lutidin : aniline : water (65 : 7.2 : 28) was used. As spraying reagent butanol solution of ninhydrin was employed.

2) Results

The results with respect to the kinds of amino acids detected by the paper chromatography are shown in Fig. 4, and the nitrogen distribution determined by Van Slyke's method is shown in Table 1.

Table 2 shows the comparison of nitrogen distribution of other fish and shell

Table 1. Nitrogen distribution of *H. discus hannai* meat

Fraction	g in 100 g of sample	% to total-N
Total-N	2.840	100
20% HCl insoluble-N	0.113	3.97
20% HCl soluble-N	2.725	96.03
Amide-N	0.143	4.06
Humine-N	0.040	1.14
Basic total-N	0.989	34.80
Arginine-N	0.546	19.20
Histidine-N	0.186	6.54
Lystine-N	0.232	8.20
Cystine-N	0.024	0.85
Basic amino-N	0.208	7.32
Mono amino acid total-N	1.621	57.17
Mono amino acid amino-N	1.459	51.42
Mono amino acid non-amino-N	0.163	5.75
Total	2.896	101.14

Table 2. Comparison of nitrogen distribution of meat of marine creatures

Fraction \ Sample	Squid (dried)	Atka mackerel	Sea cucumber	Abalone
Total-N (Per dry matter)	12.60	15.98	9.53	10.59
Amide-N	4.09	5.36	3.43	4.06
Humine-N	3.33	5.14	11.47	1.14
Basic total-N	39.70	26.13	22.40	34.80
Arginine-N	20.00	8.65	11.16	19.20
Histidine-N	8.74	8.71	9.43	6.54
Lysine-N	10.07	7.85	0.82	8.20
Cystine-N	0.92	0.91	0.93	0.85
Mono amino acid total-N	52.80	56.56	56.70	57.17
Mono amino acid amino-N	43.00	46.22	42.15	51.42
Total	99.92	98.85	98.80	101.14

fish meat (Atka mackerel[2], squid[3],sea cucumber[4]).

As seen in Table 1 and Fig. 4, aspartic acid, glutamic acid, alanine, valine, phenylalanine, proline, lysine, serine, methionine, hydroxyproline, 3-5-diiodotyrosine were detected. Tryptophane was not detected because the meat was hydrolyzed with HCl. The composition of amino acids was almost the same as in the meat of other marine creatures.

As seen in Table 2, about 57 % of the total amout of nitrogen of abalone meat was monoamino nitrogen, while about 35 % was diamino nitrogen. The amount of monoamino nitrogen in abalone meat is much greater than that in squid, Atka mackerel or sea cucumber meat. For that reason the abalone meat may be delicious in taste. The amount of diamino acids was next to that of squid meat. From those results, it was supposed that abalone meat is not inferior to that of other maine creatures in nutrition.

2. Nitrogen distribution of hot water extractive of abalone meat

1) Experimental method

One hundred and fifty g of the minced abalone meat was extracted with 450 cc of water at 40°～50°C for one hour. Trichloracetic acid was added into the extractive in order to precipitate the protein in the extractive. The precipitate obtained was filtered through a pulp layer and the filtrate was concentrated. The concentrated filtrate was hydrolyzed with 20 % HCl for 48 hours. The hydrolyzate was used for detection of the amino acids by paper chromatography and for the determination of nitrogen distribution by Van Slyke's method.

2) Results

The kinds of amino acids detected by the paper chromatography are shown in Fig. 5, while the nitrogen distribution determined by Van Slyke's method is shown in Table 3.

A comparison of the nitrogen distribution in the extractives from abalone with that from Atka mackerel[2], sea cucumber[4] and squid[5] is seen in Table 3.

As noted in Fig. 5, aspartic acid, glutamic acid, cystine, glycine, serine, alanine, leucine, lysine, valine, phenylalanine, tyrosine, and betaine are detected in the extractive. The amount of the nitrogen extracted by hot water in the abalone meat was one-tenth of that of Atka mackerel, and was less than that of squid meat. In the extractive of squid meat, the amount of diamino nitrogen was much greater than that of monoamino nitrogen, but in the extractive of abalone meat the amount of monoamino nitrogen was contrarily much more than that of diamino nitrogen; the former supplies about 57 % of the total amount

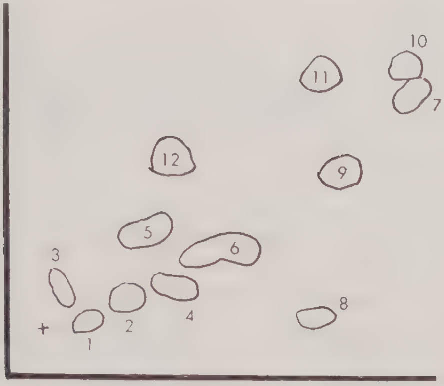


Fig. 5. Paper chromatograms of amino acids in the extractive from *H. discus hannai* meat

1. Aspartic acid
2. Glutamic acid
3. Cystine
4. Glycine
5. Serine
6. Alanine
7. Leucine
8. Lysine
9. Valine
10. Phenylalanine
11. Tyrosine
12. Betaine

Table 3. Nitrogen distribution in the extractive from *H. discus hannai* meat

Sample	Abalone		Atka mackerel	Sea cucumber	Squid
Fraction	g in 100 g of sample	% to total-N	% to total-N	% to total-N	% to total-N
Total-N extracted matter	0.530	100	100	100	100
20% HCl insoluble-N	0.017	3.16	0.79	4.48	—
20% HCl soluble-N	0.512	96.84	99.21	95.52	—
Amide-N	0.013	2.14	0.31	2.98	2.85
Humine-N	0.061	11.50	26.21	13.41	15.71
Basic total-N	0.178	33.60	32.49	37.35	40.04
Arginine-N	0.040	7.54	24.63	16.40	—
Histidine-N	—	—	—	20.09	—
Lysine-N	—	—	—	0.598	—
Cystine-N	—	—	1.57	0.448	2.44
Basic amino-N	0.043	8.13	7.13	11.94	—
Mono amino acid total-N	0.280	52.87	38.41	40.3	41.19
Mono amino acid amino-N	0.205	38.70	35.12	14.9	9.44
Total	0.549	103.17	98.03	98.52	99.79

of nitrogen. The amount of monoamino acids in monoamino nitrogen fraction is larger more than that in Atka mackerel and sea cucumber, and the ratio

$\left(\frac{\text{monoamino acid amino-N}}{\text{monoamino acid total-N}}\right)$ is about 76%. Shimidu[6] has said that the high ratio of monoamino acids to monoamino nitrogen may account for the delicious taste of of marine creatures' meat. The delicious taste of abalone meat can be explained by this high ratio.

III. HISTOLOGICAL OBSERVATIONS ON ABALONE MEAT

Before studying of fundamental properties of abalone meat, the authors have observed histologically the abalone meat, because the difference in the chemical properties of meat between fish and mollusca may be due to the difference in histological construction between them.

The differences of visceral construction and its histological observation, the construction of the shell and life history according to the kinds of the species of abalone have been studied by Ino[7] in detail.

1. Sample for histological observation

Flesh of abalones (*Haliotis discus hannai*) caught near Hakodate was removed from the shell and visceral mass was also taken out. The cross section of the large central muscle was cut as shown in Fig. 6–A.



Fig. 6–A, B. Sample taken from the cross section

From the cross section, a rectangular block was cut off with a knife as shown by dotted line in Fig. 6–A. The end of the block enlarged as shown in Fig 6–B.

The block was soaked in Bouin's solution (saturated picric acid solution: formaline: acetic acid=75:25:5) for 2 hours. The fixed block was dehydrated by means of alcohol solution of 70%, 80%, 95% in order for each 30 minutes. Preparate finally was imbedded in paraffin. Thus treated block was sliced in 10 μ (or 15 μ) thickness with a microtome. Each slice was treated as usual, dyed with Delafields' haematoxyline staining method and enclossed in balsam to make a permanent preparate.

2. Microscopic observation

Permanent preparates taken as shown in Fig. 7 were observed. Microscopic observations were photographed as shown in Figs. 8 (A)~(D). For comparison of the microscopical structure of abalone meat with fish meat, microphotographes of "Suketodara" (Alaska pollack, *Theragra chalcogramma*) meat[5] are shown in Fig. 8 (E). From Figs. 8 (B)~(E), each model sketch was made as shown in Figs. 8 (B′), (C′) and (E′).

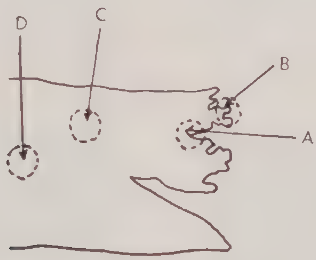


Fig. 7. Place from which preparates were taken

Figs. 8 (A) and (B) show a part of epithelial tissue. Fig. 8 (B′) is a model sketch of Fig 8 (B). As seen in Fig. 8 (B′), the epithelial tissue is different from tissue of the muscle. The inner part of muscle tissue is covered with connective tissue which protects the muscle tissue. Outside of the connective tissue, different shaped tissue are connected branch-like. In the openings between branch-shaped tissues there are many mucus cells.

Fig. 8 (C) and (D) show inner construction of the muscle. Fig. 8 (C′) is a model sketch of Fig. 8 (C). Fig. 8 (C) and (D) are similar to the part of muscle in Fig. 8 (A) and (B). But the deeper the muscle meat, the more thick the muscle fibre is observed to become. In those parts shown in Fig. 8 (C) and (D), the connective tissue can not be observed, but the muscle fibres run horizontally and vertically in all directions. Those muscle fibres connect with epithelial tissue at the ends. In comparing abalone meat with "Suketodara" (*Theragra chalcogramma*) meat of which microscopical photographs are shown in Fig. 8 (E) and (E′), each muscle bundle of "Suketodara" is seen to consist of several muscle fibres which are bound to be twisting. Many muscle bundles are situated in parallel, and between each separate muscle bundle there is connective tissue. But the connective tissue of abalone is present only at the part of epithelial tissue. "Suketodara" arrangements of muscle bundles are different from those of abalone. Therefore the fish meat may be softer than the abalone meat.

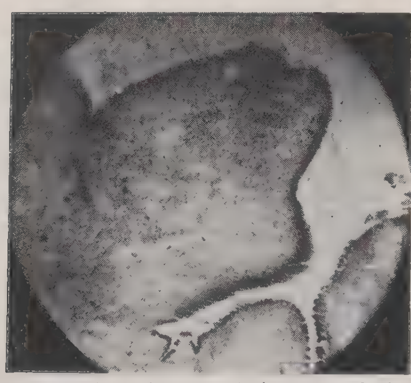


Fig. 8-A. Photograph (cross section) of A part of *H. discus hannai* meat

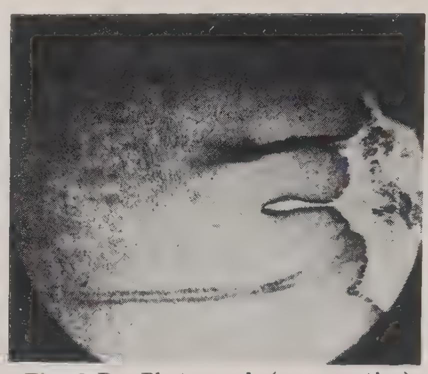


Fig. 8-B. Photograph (cross section) of B part

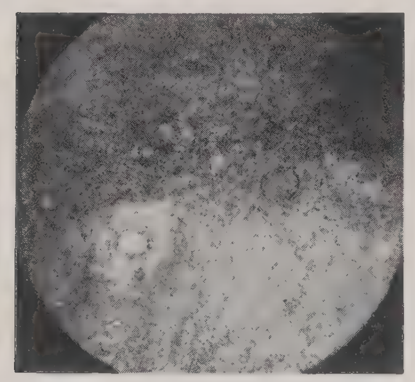


Fig. 8-C. Photograph (cross section) of C part

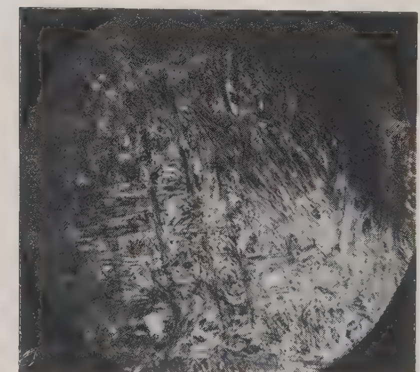


Fig. 8-D. Photograph (cross section) of D part

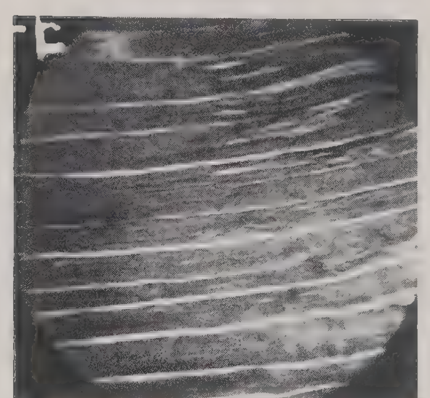


Fig. 8-E. Photograph (cross section) of "Suketodara" (*Theragra chalcogramma*) meat

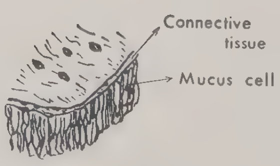


Fig. 8-B′. Model sketch of B part of *H. discus hannai* meat



Fig. 8-C′. Model sketch of C part of *H. discus hannai* meat

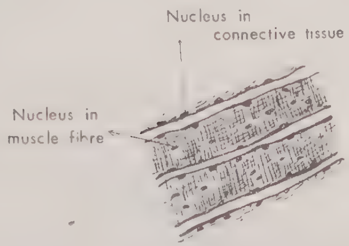


Fig. 8 E′. Model sketch of "Suketodara" (*Theragra chalcogramma*) meat

IV. CHEMICAL PROPERTIES OF ABALONE MEAT PROTEIN

In preparing dried or canned abalone, it is important to know the chemical properties of the protein of the raw material. There are few studies concerning the proteins of abalone meat[1]. The authors have carried on a series of experiments on the protein of abalone.

1. Dissolution of abalone meat

It is important to know the solubility of the abalone meat by water, acid or alkaline solutions, because when abalone is used as the raw material of various products, especially for canned goods, the solubility influences the yield and the quality of the product. Here, the authors have undertaken to determine the solubility by various solutions.

(A) Dissolution by water

1) Experimental method and results

After the shell and visceral mass were removed, the abalone (*Haliotis discus hannai*) meat was cut fine. Dissolution was tested according to the procedure of Matsumoto[9] (Schemel 1).

To 30 g of the finely cut meat, 300 cc of dist. water was added and the solution was stirred for 30 minutes, then centrifuged (3,000 r.p.m. for 30 minutes). An upper transparent liquor was obtained. Five cc of the liquid was used for the estimation by Kjeldahl's method of the amount of dissolved nitrogen.

The amount of nitrogen dissolved out by water (E_1) was 20.9% of the total amount of nitrogen in the sample meat. The upper transparent liquid was dialyzed with dist. water for 7 days, and then the liquid was centrifuged (3,000 r.p.m. for 30 minutes). The amount of nitrogen in the centrifuged clear liquor (M_1) was 6.9% of the total amount of nitrogen. To the residue (R_2) 0.5 Mol

Scheme 1. Procedures of extraction with water and NaCl solution

Meat of *Haliotis discus hannai*
30 g
Add dist. water 300 cc.
Stir 30 min.
(Centrifuge 3,000 r.p.m., 30 min.)

Clear liquor (E_1) (20.9%) | Residue (R_1)

Clear liquor (E_1):
Dialyse
7 days
(Centrifuge 3,000 r.p.m., 30 min.)

Clear liquor (M_1) (6.9%) | Residue (R_2)

Residue (R_2):
Add 0.5 M NaCl soln. to 100 cc in total volume.
Leave 24 hrs.
(Centrifuge)

Clear liquor (E_2) (2.5%) | Residue (R_3)

NaCl solution was added making 100 cc in the total volume, and the solution was left for 24 hours. At last, the solution was centrifuged as above noted, and the upper transparent liquor was used for the determination of the amount of nitrogen. The amount was 2.5 % of the total amount of nitrogen in the sample meat.

(B) Dissolution by salts, acids and alkalies

Next, similary, the finely cut meat of abalone was used for the estimation of the solubilities of the meat by salt, acid and alkali solutions.

1) Experimental method

With each 5 g samples of the finely cut abalone meat, 50 cc each of NaCl and KCl solutions having the concentrations of 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 N, or NaOH, H_2SO_4, HCl, CH_3COOH having the concentrations of 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.5 and 1.0 N, were put into tall glass bottles, respectively. The bottles were shaken frequently and were left for 24 hours. After the leaving, the upper transparent liquor was obtained by centrifugation (3,000 r.p.m. for 30 minutes). Ten cc of the liquor was used for the estimation of the amount of dissolved nitrogen.

The solubilities (S) were calculated by the following equation.

$$S=\frac{a\times 100\ (\%)}{\text{Total amount of nitrogen in 1 g of the sample}}$$

Here, "a" is the amount of nitrogen in 10 cc of the upper transparent liquid.

2) Results

Results obtained are shown in Fig. 9.

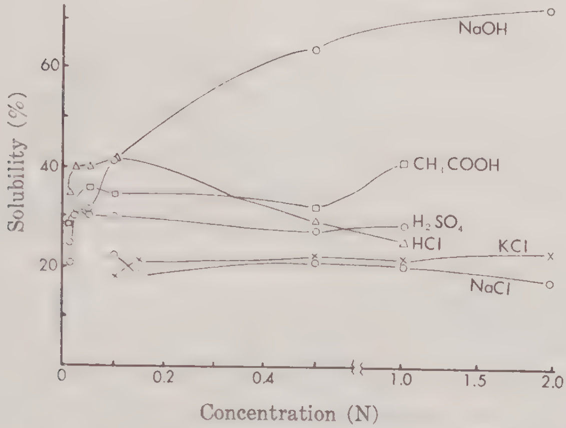


Fig. 9. Solubility of *H. discus hannai* meat by salts, acids and alkalies

The amount of nitrogen dissolved from abalone meat by water was about 22 %, and that by 0.1 N NaCl was about 22.5%. These values were almost the same. As to the amounts of nitrogen dissolved by NaCl and KCl solutions, their solubilities are also almost the same. According to the change in the concentration of NaCl solutions, the solubility was irregular, while in KCl solutions, the higher the concentration of the solution, the greater the solubility was. But according to the difference of the concentrations of neutral salts there were no remarkable different effects upon the solubilities.

On the other hand, the solubility by NaOH solution is large, about 74 %, and the lower the concentration, the smaller the degree of solubility is. Differently, the solubilities by various acids vary with the kind. For example, there is remarkable difference between hydrochloric acid and sulfuric acid. Okada *et al.*[1] or Fujii[2] have explained this difference as follows: hydrochloric acid acts on proteins as a mono-basic acid, while sulfuric acid acts as a dibasic acid.

The solubility of the abalone meat in acetic acid showed high value (about 42 %) in 1.0 N solution.

In general, differing from hydrochloric or sulfuric acid, the solubility by alkaline solution increased with the increase of the concentration.

The reason why such a difference exists may be explained as follows: in acid solution of high concentration the protein of the abalone meat coagulates; contrarily in alkaline solution the meat protein will be hydrolyzed.

On the basis of the above described observations, the abalone meat can be said to be dissolved by water or NaCl solution, when the meat is soaking in water or NaCl solution during the processing, but the solubility is smaller than that of

fish meat[2][8].

2. Isoelectric points of protein of the abalone meat

Abalone meat contains a few kinds of protein, therefore the solubility of the meat by various solvents is expected to be different.

Next, the authors undertook to determine the isoelectric points of proteins which are extracted from the meat by means of water or NaCl solution.

1) Experimental method

After the shell and visceral mass were removed, the abalone (*Haliotis discus hannai*) meat was cut finely. To 15 g of the finely cut meat, 250 cc of dist. water or 0.5 N NaCl solution were added; the solution was occasionally stirred, and left for 24 hours, then water-soluble protein or NaCl solution soluble protein were obtained by filtering with paper-pulp layer.

Each 10 cc portions of those water soluble protein or NaCl soluble protein solution were added to 40 cc portions of the buffer solutions having various pH values which were prepared from N/25 NaOH and N/25 HCl solutions, respectively. After the solutions had been left for 24 hours, the resultant precipitate was filtered. The pH value and viscosity of the filtrate were determined. The relative viscosity (η/η_0) was measured by Ostwald's viscosimeter in a thermostat of 13°C. The pH value of the protein solution which possesses the minimum relative viscosity, is considered as the isoelectric point of the protein. On the other hand, the total amount of nitrogen in the precipitated substance noted above was estimated, and the pH value at the maximum amount of nitrogen, was ditermined and regarded as the isoelectric point of the protein.

2) Results

The results obtained are shown in Figs. 10 and 11.

As seen in Figs. 10 and 11, the isoelectric point of water soluble protein of the abalone meat was 4.8~5.2, and that of NaCl solution soluble protein was 5.2. The reason why the isoelectric point has some range is the fact that the protein is not a single component, but consists of several components.

Comparing the isoelectric points which were determined by the viscosity method and those obtained by the method of the estimation of the total amount of nitrogen in the precipitated substance, the two isoelectric points were found to be in agreement as shown in Figs. 10 and 11.

Okada *et al.*[10] have stated that the isoelectric points of squid and fish ("Aji", carp and skipjack) meat are pH 4.8 and 5.5, respectively. The isoelectric point of the abalone meat resembles that of squid. Abalone and squid are both mollusca. The isoelectric points of the mollusca are situated pretty well to the acidic

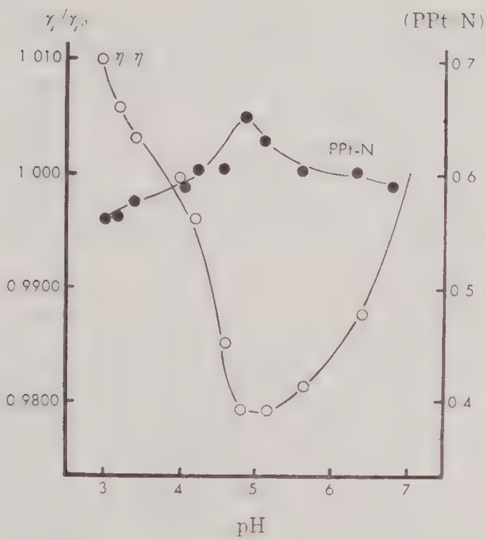


Fig. 10. Isoelectric point of water-soluble protein of *H. discus hannai* meat

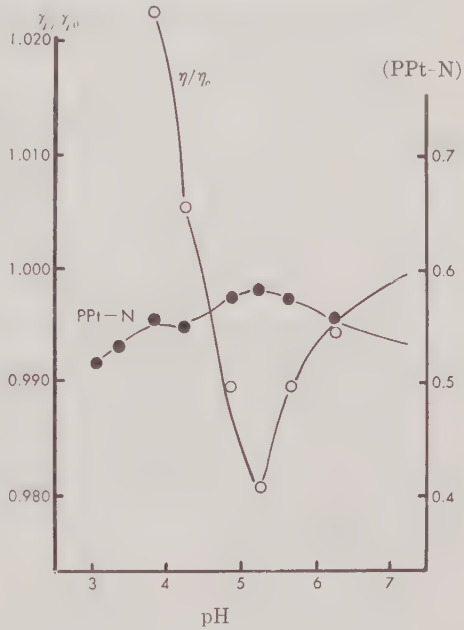


Fig. 11. Isoelectric point of 0.5 N NaCl solution soluble protein of *H. discus hannai* meat

side than those of fish meat. The reason why the isoelectric point of the mollusca is more acidic is not the difference of the constituents of protein (*e.g.* composition of the kinds of amino acid), but may be due to the fact that electro-chemical balance between acidic and basic amino acids is inclined to the acidic side[11].

3. The phenomenon of flow birefringence of the extractive of the abalone meat

The phenomenon of flow birefringence (S.B.) in the extracted solution of fish meat has been observed by Okada and Tada. According to their report, in the extractive of fish meat by KCl solution (0.6 M) the pattern of flow birefringence was clearly shown, but no pattern of flow birefringence was shown in water extractive solution. Contrarily the pattern of flow birefringence was observed both in water soluble solution and in KCl soluble solution of mollusca meat.

Matsumoto[12] have studied the flow birefringence in the water extractive of squid. Tanikawa *et al.*[13] have also stuided that in sea cucumber meat. They all have observed the pattern of flow birefringence in the water extractives.

Here, the authors would report their attempts to observe the flow birefringence in the solutions of water soluble, Weber's solution soluble and NaCl solution-soluble proteins by the same apparatus employed in studying the extracts of sea

cucumber meat (*Stichopus japonicus*)[14].

1) Experimental method

After the shell and visceral mass were removed, the abalone meat was cut finely. To 20 g of the sample meat, 200 cc of dist. water was added. After 15 minutes' stirring of the mixture, it was centrifuged (3,000 r.p.m. for 30 minutes). The flow birefringence of the upper clear liquor thus obtained was observed. The total amount of nitrogen in the same upper clear liquor was estimated, and the dissolved ratio (%) of the nitrogen relative to the total nitrogen in the raw meat was calculated. Biuret reaction, Molisch reaction and Diazo reaction were also applied to the same upper clear liquor.

To the residue of the 1st extraction, 200 cc of dist. water was added and the 2nd extraction was carried out. Intensity of birefringence and the total amount of nitrogen were also estimated for the 2nd extract. The extractions were continued as long as the flow birefringence could be distinguished, as shown in Scheme 2.

Scheme 2. Procedure of repeated extractions with water

Crushed meat of *Haliotis discus hannai*, 20 g

Add dist. water 200 cc.
Stir for 15 min.
Centrifuge (3,000 r.p.m., 30 min.)

Clear liquor (S_1)

Total nitrogen
S. B. phenomena
Biuret reaction
Molisch reaction
Diazo reaction

Precipitate (R_1)

Add dist. water 200 cc.
Stir for 15 min.
Centrifuge

Clear liquor (S_2)

Precipitate (R_2)

Treat as above

Extraction was also done by the use of Weber's solution (which consists of KCl, $NaHCO_3$ and Na_2CO_3 in the proportion of 0.6, 0.04 and 0.01 Mol, respectively) as well as by water.

2) Results

Results obtained are shown in Tables 4 and 5.

As seen in Table 4, no pattern of flow birefringence appeared from the 1st extraction to the 3rd extraction. From 4th to the 11th extraction, the pattern appeared; at last in the 12th extraction, the pattern disappeared. On the other hand, in the extraction of the meat by the use of Weber's solution, from the 1st to the 3rd extraction the pattern was observed, and from the 4th extraction the pattern disappeared. The pattern in the 2nd extraction was markedly apparent.

Table 4. Phenomena of dissolution of *H. discus hannai* meat during repeated extractions with water

Extraction No.	Extracted solution (cc)	Soluble nitrogen of extracted soln. (mg)	Soluble-N / Total-N (%)	S. B.	Biuret react.	Molisch react.	Diazo react.	Appearance of sediment
S_1	200	9.53	2.16	−	+	+	+	Kept in original form
S_2	200	4.52	1.25	−	+	+	+	Softening of meat
S_3	200	3.37	0.77	−	+	+	+	Ditto
S_4	200	2.56	0.58	+	+	+	+	Further softening, D-layer piled on
S_5	195	1.86	0.42	+	+	+	+	Ditto, upper layer of sediment flowed out by decantation
S_6	195	1.38	0.31	+	+	+	+	Ditto
S_7	200	1.63	0.37	+	+	+	+	Ditto
S_8	200	1.05	0.24	+	+	+	+	Ditto
S_9	200	1.05	0.24	+	+	+	+	Ditto, D-layer decreased in volume
S_{10}	200	0.98	0.22	+	+	+	+	Ditto
S_{11}	200	1.05	0.24	±	+	+	+	Decreased further
S_{12}	200	0.93	0.21	−	+	+	+	

Table 5. Phenomena of dissolution of *H. discus hannai* meat during repeated extractions with Weber's solution

Extraction No.	Extracted solution (cc)	Soluble nitrogen of extracted soln. (mg)	Soluble-N / Total-N (%)	S. B.	Appearance of sediment
S_1	200	11.05	2.50	+	Softening of meat
S_2	200	6.48	1.46	+	Ditto
S_3	200	2.56	0.58	±	Ditto
S_4	200	2.10	0.47	−	Ditto

As above noted, the extractions of abalone meat by the use of water or Weber's solution showed a pattern of flow birefringence.

In chemical studies on the proteins of sea cucumber meat reported by Tanikawa,[14] the amount of nitrogen dissolved out was proportional to the strength of the pattern of flow birefringence and there should exist an intimate relation between them.

But in the case of abalone meat, such fact could not be observed with 20 times volume of dist. water. The first extracted solution consists of three layers: A-layer which is an upper clear liquor, B-layer which is situated in the bottom of the centrifugal tube and contains white cloudy rod-like, thread-like or filament-

like sediment which is supposed to be stroma, C-layer which is situated above B-layer and contains white semi-transparent gruel-like substance. After the second extraction, a small amount of sediment is formed in the upper part of C-layer, indicating liquidity, and if the tube is inclined, the liquid layer flows out in company with A-layer. Matsumoto[15] has called it "D-layer" (Fig. 12).

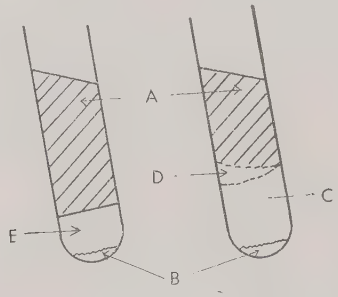


Fig. 12. Appearance of centrifuged sediment of aqueous extracted solution
(I) The first extract
(II) The second and the following extracts
A-phase Supernatant
B-phase White coarse residue
C-phase Translucent paste
D-phase Fluid suspension
E-phase White compact paste

In the case of extracting of the abalone meat with water, when the D-layer appeared, the pattern of flow birefringence has been observed; when the D-layer disappeared, no pattern was observed. Those phenomena are similar to those observed in the case of extraction of sea cucumber meat[14].
Here, the 5th extractive solution showing markedly apparent patteren of flow birefringence, was heated at various temperatures for 10 minutes or filtered through filter paper, and the phenomena of the flow birefringence was observed. The results obtained are recorded in Table 6.

As seen in Table 6, when the 5th extraction solution was heated above 65°C, the pattern of flow birefringence became unobservable.

From the observations, it is evident that the phenomenon of the flow birefringence in the water-extractives of abalone meat does not occur in the first extraction, but several extractions later. The phenomenon does not appear after the fiiltration of the extractives and furthermore also the phenomenon disappears after heating the extractive above 65°C.

Table 6. Flow birefringence after heating at various temperatures or after filtration of the 5th water-extracted solution of *H. discuss hannai* meat

Temp. (°C)	S. B.
35	+
45	+
65	±
75	—
After filtration	—

As the pattern of flow birefringence had been distinguished after filtration, the molecular shape of the subtance in the extractive showing the pattern was assumed to be large.

The similar phenomenon was observed by Tanikawa[14] in studying sea cucumber meat. In the case of the sea cucumber meat, Tanikawa has considered that the muscle fibre which consists mainly of collagen fibre will be deformed mechanically by the extraction with water and that fibre flakes which form the pattern of flow birefringence will disperse in the extractive solution.

As histologically observed, the muscle fibers of the abalone meat are fine and arranged like net-work. Such histological properties of the abalone meat resemble those of sea cucumber meat. So the appearance of the pattern of flow birefringence in the extraction of abalone meat is considered to be due to the mechanical deformation of muscle fibre, by which the fibre flakes will be dispersed in the extractive showing the pattern of flow birefringence.

4. Dehydration and coagulation of the abalone meat by heating

It is important to know about the phenomena of coagulation and of dehydration of abalone meat by heating in order to decide the heating conditions during the processing of the canned goods.

Here, the authors discuss their attempt to estimate the ratios of absorption or dehydration of water of the abalone meat heated in water at various temperatures, and heat coagulation of proteins which were extracted by water or NaCl solution.

(A) Absorption or dehydration of water

When fish meat is soaked in water at comparatively low temperatures, the meat absorbs water, but when it is heated in hot water dehydration occurs.

The authors undertook to find out whether similar phenomena occur or not, when the abalone meat is soaked in water at various temperatures.

1) Experimental method

From abalone (*Haliotis discus hannai*) caught near Hakodate, Hokkaido, the shell and visceral mass were removed. The central muscle meat was cut to prepare blocks of about 2 cm³ in size (4~5 g). The blocks were weighed as W_0. Some blocks were put into a beaker containing 50 cc of water. The temperature of the water was raised slowly by heating to each pre-detemined definite temperature from 20° to 90°C. Above 100°C, each beaker in which one individual block each was placed were heated to various temperatures in a retort. After the blocks were heated at each definite temperature for 20 minutes, they were taken from the beaker, and cooled. The water attached to the surface of the blocks was wiped off with filter paper. The blocks were then weighed as W. The difference between the weight of the block after the before the immersing in heated water was obtained and the ratio of the difference to the original weight was calculated $\left(\frac{W-W_0}{A}\times 100\right)$.

If the original weight (W_0) is less than the weight (W) of a block after the soaking, the ratio shows plus; this is the ratio of absorption of water. But if the original weight (W_0) is larger than the weight (W) of block after the soaking, the ratio shows minus; this is ratio of dehydration.

2) Experimental results

Results obtained are shown in Fig. 13.

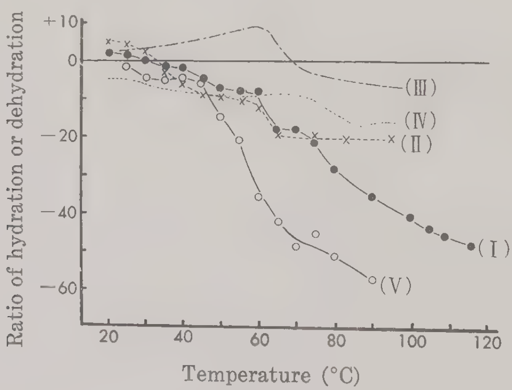


Fig. 13. Hydrating and dehydrating curves of *H. discus hannai* meat and other fish meat
I Abalone, II Atka mackerel, III Salmon
IV Loach, V Sea cucumber

In Fig. 13, curve I shows the curve of abalone meat, curve II shows that of Atka mackerel meat[2], curves III and IV show those of salmon[16] and loach[17], and curve V shows that of sea cucumber meat[14].

As seen in Fig. 13, with the boundary at the temperature of 30°C, the meat absorbed water below 30°C, while it lost water at above 30°C. In the part of the curve showing dehydration, there are observed steep slopes between 40 ~55 C, and between 60°~70°C. Above 75°C, the dehydration became rapid. At this point, all the proteins in the meat is considered to be completely coagulated. On the basis of those observations, there seem to be two kinds of proteins in the abalone meat. One of them corresponds to myosin whilst the other corresponds to myogen.

The fact that the ratio of dehydrating of abalone meat decreased largely at higher temperatures resembles that of sea cucumber meat. Accordingly it is assumed that the muscle fibre of abalone meat takes the form of a net-work construction like that of sea cucumber meat.

(B) Heat coagulation

When fisn meat is heated in water, the proteins in the meat are coagulated at a certain temperature according to the kind. The authors have tried to determine the temperatures at which proteins coagulate in the present material.

1) Experimental method

Abalone (*Haliotis discus hannai*) meat was obtained by removal from the shell and cutting away the visceral mass. The abalone meat was cut fine. To 100 g of the finely cut meat 300 cc of dist. water wes added. The mixture was left for one hour with occasional stirring. After having been left, the mixture was fiiltered. Ten cc portions of the filtrate (water soluble protein) were poured separately into test tubes. Those test tubes were heated separately at each pre-determined temperature from 25 C to 90 C for 10 minutes. After the heating, the test tubes were cooled rapidly, and the solution was filtered. The total amount of nitrogen in 5 cc of the filtrate was estimated by Kjeldahl's method. The difference in the amount between that in a definite volume (5 cc) of the filtrate (non-coagulable protein) and in that of the original water-soluble protein solution was considered to be the coagulable protein.

Similarly, the amounts of protein in the meat coagulable by heating in 0.5 N NaCl solution at various temperatures were estimated.

2) Experimental results

Results obtained are shown in Fig. 14.

In Fig. 14, curves I and II show the heat coagulation of the extractives of abalone meat by water or 0.5 N NaCl solution, respectively, curve III shows that of sea cucumer by 0.5 N NaCl solution, curves IV and V show those of Atka mackerel by water or by 0.5 N NaCl solution and curve VI shows that of squid meat[18] by water, respectively.

As seen in Fig. 15, the heat coagulation of water-soluble protein was completed

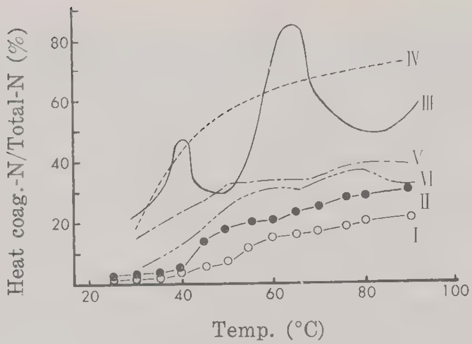


Fig. 14. Heat coagulation curves of *H. discus hannai* meat and other fish meat
I Abalone (in dist. water)
II Abalone (in 0.5 N NaCl Soln.)
III Sea cucumber (in 0.5 N NaCl Soln.)
IV Atka mackerel (in dist. water)
V Atka mackerel (in 0.5 N NaCl Soln.)
VI Squid (in dist. water)

within two temperature ranges from 45°C to 50°C and from 60°C to 65°C. The slope from 40°C to 45°C was not remarkable, while that from 55°C to 60°C was pretty remarkable. The curve showing the water-soluble protein ascended gradually from about 40°C and reached 60°~66°C. The main component of the coagulable protein in this case is considered to be myogen.

On the other hand, the heat coagulation of 0.5 N NaCl solution-soluble protein starts from 35°C, continues gradually to 40°C, then continues rapidly from 40°C to 55°C and becomes slow from 60°C. The coagulation is again caused to occur pretty largely from 70°C to 80°C. That is to say, there are observed in this curve two steps indicating the pressence of two kinds of proteins.

One of the proteins which is coagulated at the lower temperature (40°~55°C) is actually myosin, while the other at higher temperature (60°~70°C) is considered to be myosin. The presence of two kinds of proteins was also observed in the dehydrating curve obtained as described above.

In other curves (curves III, IV, V and VI), the steps corresponded obviously to two kinds of proteins.

5. Swelling of the abalone meat.

To study the swelling of proteins is considered to be one of the important methods to find out about the hydration of the proteins, because the swelling of protein is considered to be one of the phenomena of lyotropic hydration.

The authors have examined the phenomena of swelling of the abalone meat

immersed in various salt solutions and the relations among the degree of swelling, the kind of salts and the pH value of the immersion solution.

1) Experimental method

After the shell and visceral mass were removed, the abalone (*Haliotis discus hannai*) meat was cut into small cubes (about 2 g). After the blocks were weighed, they were separately put into beakers each containing 50 cc of various salt solutions having various concentrations or having various pH values. After the beakers had been left at room temperature (20 ~25 °C) for 24 hours, each block was taken out from the beaker. The water attached to the surface of the blocks was wiped off with filter paper. Each block was then weighed. The ratio of the weight of the block after the immersion (W) to that before the immersion (W_0) was calculated as the degree of swelling (S) of the sample meat ($S = W/W_0$).

Salt solutions employed were NaCl, KCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$, KI, K_2SO_4, KCNS, $NaNO_3$, KNO_3, $CH_3COONa \cdot 3H_2O$, NH_4Cl, Na_2CO_3, Na_2SO_4, $Na_3PO_4 \cdot 3H_2O$, and $C_3H_4OH(COONa)_3$ solution of 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 and 2.0 Mol. As contrast, dist. water was also employed.

The immersion solutions having various pH values were prepared by varying the proportion of the mixture of N/10 HCl and N/10 NaOH covering the range of pH 2 to 8.

2) Results

Results obtained are shown in Figs. 15~18.

The degree of swelling of the abalone block meat in various concentrations of solutions containing chlorides are shown in Fig. 15. Those in solutions containing sodium salts are shown in Fig. 16. Those in solutions containing potassium salts are shown in Fig. 17. Those in solutions having various pH values are shown in Fig. 18.

As seen in Figs. 15~17, the degrees of swelling of the abalone meat in the

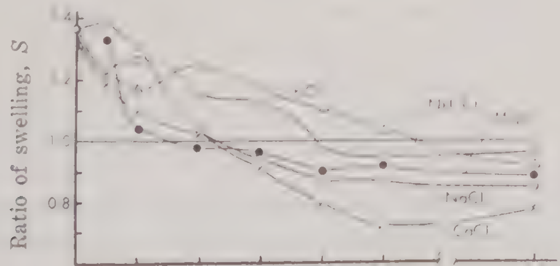


Fig. 15. Degree of swelling of *H. discus hannai* meat in various concentration of solutions containing chlorides

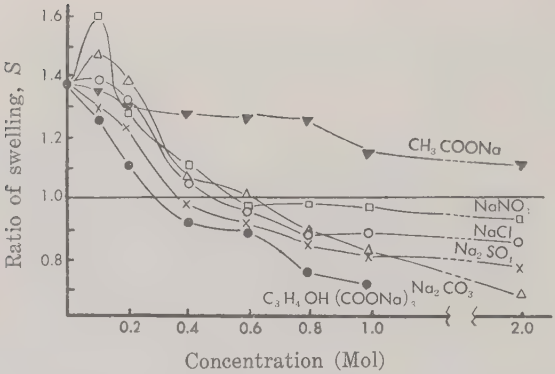


Fig. 16. Degree of swelling of *H. discus hannai* meat in various concentrations of solutions containing sodium salts

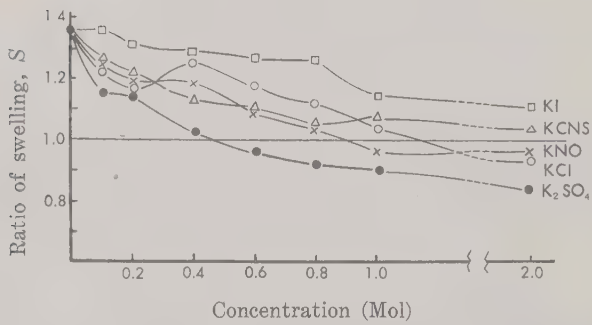


Fig. 17. Degree of swelling of *H. discus hannai* meat in various concentrations of solutions containing potassium salts

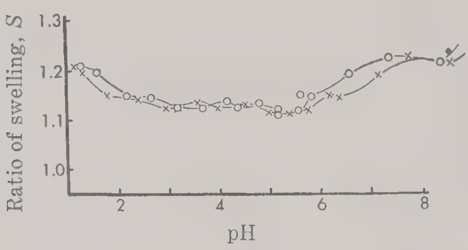


Fig. 18. Degree of swelling of *H. discus hannai* meat in solutions of various pH values
×....pH of adjusted soln.; ○....pH after 24 hrs.

solutions of salts are different according to the concentrations of the solutions. Similarly, those in solutions having various pH values are different according to the pH value.

The observations of the degrees of swelling in the salt solutions are summarized as follows:

(1) In 0.2~2.0 Mol solutions of various salts, the degrees decreased with increase of molecular weight of the salts.

(2) As to monovalent salts, there is a maximum point of the degree of swelling between 0.1 and 0.4 Mol concentrationn.

(3) As to divalent or tri-valent salts, the maximum points are not noticeable.

(4) The degrees of swelling in salt solutions having Cl^-, are smaller than those having Na^+ or K^+.

(5) Between pH 5.0 and 5.4 (the isoelectric range of the abalone meat proteins), the degrees of swelling in solutions having various pH values are the minimum. Generally speaking, the degrees of swelling of the abalone meat are less than those of fish meats such as Alaska pollack[1] or Atka mackerel[2]. This is due to the characteristics of the abalone meat muscle which have been clarified by the histological studies showing the net-work construction of muscle fibres.

This net-work construction of the muscle tissue prevents penetration of water into muscle tissue resulting in diffeculty of hydration.

From another point of view, the swelling of high molecular substances such as protein is said to be a dissoluting process, and is regarded as a kind of solvation (hydration). Therefore, the hydration is influenced by ionic valency which has intimate relation with the pH values of the solution. For this reason, at the isoelectric point the binding strength between protein molecular and water molecular structures becomes the minimum, and the degree of swelling will show the minimum.

6. Hydration of the abalone meat

In order to gain further knowledge on the hydration of the abalone meat, the water-content (g)–relative vapour pressure (p/p_0) curve in the fresh raw meat was determined.

Similarly the curves in the canned abalone meat were determined, and the relation between hydration and cooking was ascertained.

A) Fresh raw abalone meat

1) Experimental method

The relation between water-content (g of water per g of the dried matter), "g" and relative vapour pressure "(p/p_0)" in fresh abalone meat (water-content 77.1%, volatile basic nitrogen 2.01 mg%) was determined at 20°C by vapour tension method[20].

2) Results

The results obtained from the fresh raw abalone meat are shown as Fig. 19.

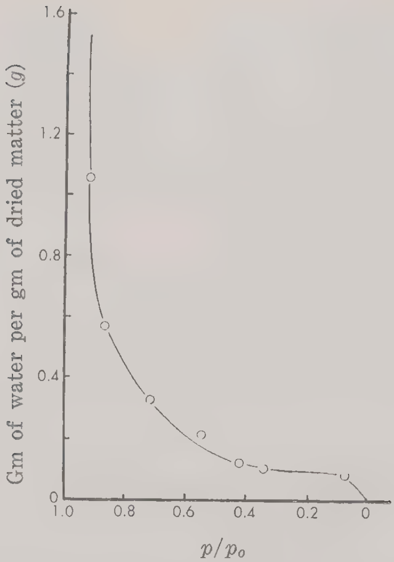


Fig. 19. " g-p/p_o " curve of fresh raw *H. discus hannai* meat

According to the results obtained by many investigators[20b), 21)], in the estimation of the bound water by vapour tension method, water below the range of 0.5 to 0.6 water-activity (p/p_0) has been regarded as molecular theorectical bound water. In the present experiment, at the value of 0.5 of water-activity the amount of water content "g" (g of water per g of dried metter) was 0.15. This value was compared with correspouding values of 12 other kinds of marine creature meats[20c,d)]; they are almost the same. This will show that the properties of abalone meat protein are not remarkably different from those of other marine creatures, even though the amount of the protein differs from that of others.

(B) Canned abalone meat

Fresh raw abalone meat and unfresh raw abalone meat samples which were left in a thermostat for some time, were submitted to the processing. The two raw materials were cooked at 3 lbs pressure for 10 minutes, and then were filled separately into cans. The cans were processed at 10 lbs pressure for 80 minutes. After two months' storing of the cans, the meats were taken out and used for the estimation of "$g-p/p_0$" curve. The freshness of the original raw material was reflected by the values of 7.0 and 21.8 mg%, respectively as the amount of volatile basic nitrogen.

The amount of volatile basic nitrogen of the two meat samples after the opening of the cans was 10.1 and 18.4 mg%.

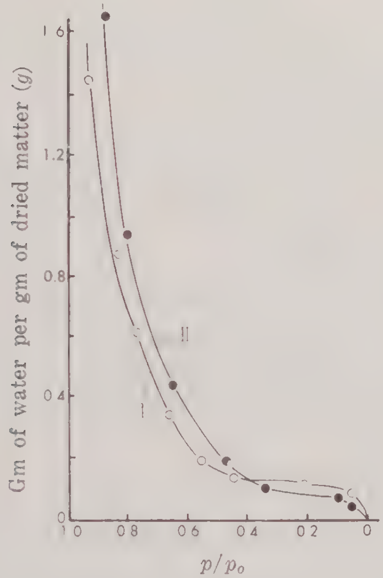


Fig. 20. " g-p/p_o " curves of canned abalone meat
I Fresh raw material (V. B.-N, 7 mg%)
II Unfresh material (V. B.-N, 21.8 mg%)

2) Results

The results obtained are shown in Fig. 20.

As seen in Fig. 20, the hydrating affinity of water in canned abalone meat has no remarkable difference, in comparison with that of fresh raw abalone meat.

This will be a factor in the canning of abalone meat, of which the appearance and elasticity are like those of raw abalone meat. The fact that the hydrating affinity of water is almost the same as that of raw abalone meat, may be explained from the fact of the less amounts of heat coagulable protein nitrogen, water soluble protein nitrogen, and NaCl solution-soluble protein nitrogen than those of other fish meat.

As to the freshness of the abalone meat, the curve showing the hydrating affinity of water for the canned abalone meat which was processed from unfresh raw abalone meat is situated lower than that for the canned meat processed from fresh raw abalone meat. That is to say, the amount of bound water in the former is less than that in the latter. The result obtained as above suggests that the hydrating affinity of water in abalone meat decreases with the denaturation of the meat protein during storing or processing.

Literature cited

1 a) Cited from Oya, T. *et al.* (1934). "*Nantaidobutzu-no-Kagaku*" (Chemistry of Mollusca). 208 p. Tokyo; Koseikaku-Koseisha.
b) Takahashi, E. (1921). *Jour. Chem. Soc. Japan* 42, 537 (in Japanese).
2) Fujii, Y. (1954). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 5 (3), 253 (in Japanese).
3) Igarashi, H. *et al.* (1953). "*Hokusuishi-geppo*" (Monthly Report of Hokkaido Fisheries Exp. St.) **10** (3), 36 (in Japanese).
4) Tanikawa, E. *et al.* (1955). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **6** (1), 37.
5) Yoshimura, K. *et al.* (1953). *Ibid.* **3** (3), 205 (in Japanese).
6) Shimidu, W. *et al.* (1953). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **19** (8), 871 (in Japanese).
7) Ino, T. (1953). "*Awabi*" (Japanese Abalone). Tokyo; Tokai-shobo.
8) Tanikawa, E. *et al.* (1960). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **11** (3), 162.
9) Cited from Migita, M. (1953). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 18 (10), 116 (in Japanese).
10) Okada, M. *et al.* (1953). *Ibid.* **19** (3), 178 (in Japanese).
11) Migita, M. & Tanikawa, E. (1958). "*Ika-no-Kagaku-to-Kako*" (Chemistry and Technology of Squid) 34 p. Hakodate; Hokkai Suisan Shinbun-sha.
12) Okada, M. *et al.* (1954). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **20** (3), 224 (in Japanese).
13) Matsumoto, J. Jr. (1957). *Ibid.* **23** (1), 47.
14) Tanikawa, E. (1955). *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 5 (1), 1.
15) Matsumoto, J. Jr. (1958). *Bull. Tokai Regional Fish. Res. Lab.* (20), 65.
16) Shimidu, W. (1943). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **12** (3), 103 (in Japanese).
17) Shimidu, W. *et al.* (1951). *Ibid.* **17** (5), 18 (in Japanese).
18) Takagi, M. (1950). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1 (1), 28 (in Japanese).
19) Tanikawa, E. *et al.* (1961). *Ibid.* **11** (4), 203.
20 a) Akiba, M. (1951). *Ibid.* 1 (3-4), 156.
b) (1951). *Ibid.* 2 (3), 176.
c) —— (1952). *Ibid.* 2 (4), 239.
d) —— (1955). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 20 (10), 937 (in Japanese).
21) Higashi, K. *et al.* (1948). "Kagaku-no-Kenkyu" (Chemical Researches) 1. Biochemistry, 23 (in Japanese).

水産動物筋肉の生化学的研究
第2報　ホタテ貝柱の変色度の表示法について

飯田　優・荒木　功・村田　喜一・大石　圭一
（青森県水産物加工研究所）（北海道大学水産学部水産食品化学教室）

Biochemical Studies on the Muscle of Sea Animals
II. On color-evaluation of *hotate-kaibashira* adductor muscle of scallop (Pecten yessoensis)

Atsushi IIDA, Isao ARAKI, Kiichi MURATA and Keiichi ŌISHI

Abstract

Hotate-kaibashira is processed from adductor muscle of scallop (Pecten yessoensis) by boiling and drying. It is one of the important sea foods in Japan. While storing, its color deteriorates and becomes brown and dark. A prevention method for descoloration is needed to keep its good quality.

The color grading is estimated according to the following method: Optical density of an extract with 7.5% NaOH solution is determined at the wave length of 400 mμ, and E-value is computed by the equation (1).

$$\text{E-value} = \text{O.D.} \times \frac{\text{total volume of extract (cc)}}{\text{dried weight of muscle (g)}} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(1)$$

When the E-value was compared with the evaluation by organoleptic test, the quality was graded as follows:

E-value of normal quality sample .... 9 to 12
E-value of slightly deteriorated sample ....12 to 15
E-value of extremely deteriorated sample......................more than 15

Outer and inner parts of *hotate-kaibashira* were clearly different in color. The E-value of inner part was higher than the outer and the inner part was higher in moisture content than the outer, too.

A difference on the pH values of water extractst from *hotate-kaibashira* was found, i, e., the good quality products were more alkaline than the value of pH 6.6 and the descolored ones were more acidic than that. The inner part was more acidic than the outer.

緒　　　言

ホタテ貝柱は周知の如くホタテ貝（*Pecten yessoensis*）の閉殻筋たる貝柱の煮乾品で我国に於ける重要な水[illegible]一つとなっているが，黄褐色乃至橙褐色の色調を呈するものが優良品として珍重される。しかし製品の中には主に貯蔵中に褐色を帯びて緑褐色乃至焦茶色に変色するものがあり，これらは製品の商品価値を著しく低下せしめるので，その対策が望まれているが，未だこの変色に対する防止法は得られていない。こうした変色はまたホタテ貝同様軟体動物であるイカの素乾品においてもみられるところであるが，著者等はこの両者の変色は関連性をもつものとみなし，変色を防止するこ

とを目的としてまず変色原因を究明せんとしている。

今回著者等は多数のホタテ貝柱製品の色調を観察した結果，その色調を客観的に表示する必要を感じ，着色程度を数値で表示する方法を検討した。しかし製品個体そのままの色調を客観的に比較することは困難であったので，種々検討して貝柱筋肉は稀薄苛性ソーダで消化されて着色した透明液となることを知り，なお懸濁物を酢酸鉛で除去して夫々製品の色調に応じた着色液を調製し得たので，これについて比較考察した。以下著者等がホタテ貝柱製品について試みた着色度の表示法を述べ，併わせて製品の乾燥と着色の状態，着色と pH との関係について報告する。

実 験 の 部

1. 着色度の表示法について

試料 1)青森県陸奥湾沿岸及び北海道常呂地方に於いて製造され，産地別に 12 種に分類されたホタテ貝柱製品 127 個体。 2) ホタテ生貝柱素乾品 1 種 10 個体。 3) ホタテ生貝柱を 75°～105°C に約 8 時間加熱し，極端に変色せしめたもの 1 種 30 個体。これらを 1～2 mm 角に刻んで 2 週間共栓褐色瓶に貯え，水分の均一化を計ったのち供試した。

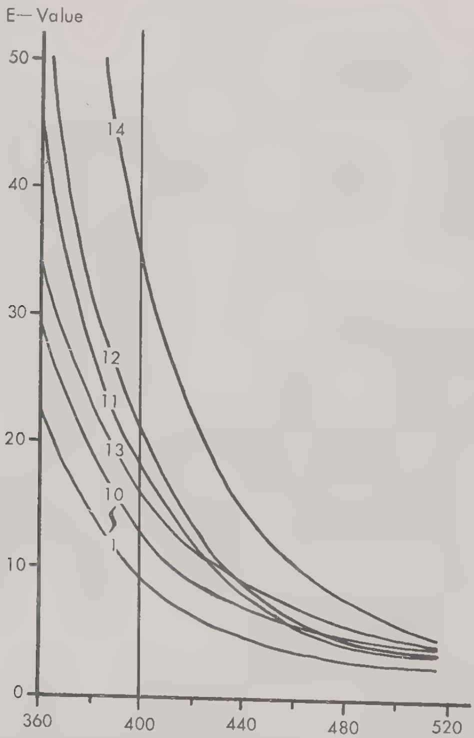


Fig. 1. E-values of extracts from various kinds of *hotate-kaibashira* products with 7.5% NaOH solution

1～12........Usual *hotate-kaibashira* products, boiled and dried

13 ....*Hotate-kaibashira*, not boiled, but merely dried by the usual method

14 ....*Hotate-kaibashira*, not boiled, but dried under high temperature (75°～105°)

著色液の調製 上記の各試料筋肉を稀薄苛性ソーダで消化させる場合に製品の水分差によって生じるアルカリ濃度の変動を少くするため，極く少量の筋肉試料（1g）にアルカリ溶液の大量（50cc）を加えることとし，種々検討した結果用いる苛性ソーダ溶液の濃度は 7.5% とした。また消化は 28 C の恒温槽中で 20 時間行った。消化して得た半透明液に 20% 醋酸鉛溶液 20 cc を加えて生成する沈澱を遠心除去し，その上清に炭酸ソーダ[illegible]，夫々試料製品の色調に応じた淡黄褐色乃至淡黄橙色の透明液を得た。

着色度の表示法 魚肉ならびに貝類筋肉の褐変に関する研究で変色程度を表示する方法としては魚肉の反射率を用いて計算する方法[1]，筋肉の特定波長に於ける吸光値を測定する方法[2]があるが，駒木氏等[3]は海藻の色調検定に色素抽出液の吸光値から $E^{1g/g}_{1cm}$ を計算して変色の状態をみている。著者等はベツクマン分光々度計によって上記着色液の吸光値を測定し，これより前掲の（1）式によって $E^{70cc/g}_{1cm}$ を計算して第 1 図に示した通りの吸収曲線を得た。この吸収曲線は魚肉を加熱した際の褐変液汁[1]，褐変貝筋肉[2]，褐変魚肉蛋白[4]などと異り 360～800mμ の間で吸収帯をもたなかったが，その色調より 400～450 に於ける E-value について比較検討すべきと考え，第 1 図から明らかな如くこの波長範囲でその差が最も大きい 400 mμ に於ける E-value を以て着色とした。

考察 製品各試料の着色度を第 1 表に記した。また著者等は肉眼判定によって試料製品の変色の

Table 1. Color and color grading of various kinds of *hotate-kaibashira*

No.	Judgement on descoloration*	Color standard**	Color grading (E-value)
1	−	8 − 4 − 17	9.35
2	−	〃	9.32
3	−	8 − 4 − 18 8 − 4 − 17	9.94
4	−	8 − 4 − 17	10.05
5	−	9 − 4 − 17 9 − 4 − 16	10.95
6	−	〃	11.20
7	−	〃	11.39
8	− ～ ∓	9 − 4 − 16 8 − 4 − 16	11.97
9	− ～ ±	〃	12.50
10	± ～ +	〃	13.08
11	+	9 − 4 − 15 9 − 3 − 13	18.15
12	+	〃	20.85
13	+	8 − 4 − 16 9 − 3 − 15	16.00
14	+	7 − 2 − 11 8 − 2 − 12	33.48

*....Judged by organoleptic test, i.e., (−)....normal quality, (∓)....very slightly deteriorated, (±)....slightly deteriorated, and (+)....extremely deteriorated, respectively

**....Judged by "Color Standard" by Japan Color Research Institute and exhibited in the form of Color-Briliance-Hue

有無を判定し，変色していない正常な色調をもつものを－，極く軽度の変色品を∓，軽度の変色品を±，極端に変色したものを＋となし，また試料製品の色調を日本色彩研究所発行の「色の標準」によって色相－彩色－明度を判定し，これらの結果を着色度と比較するため第 1 表に併記した。この結果によると貝柱の色調は殆んど「色の標準」による色相 8 乃至 9 に相当しているが，着色が正常なものは明度が 18 乃至 16 で明るい色調の純黄色，黄緑色，黄緑色乃至暗黄緑色を呈し，これらの着色度は 9 乃至 12 未満であった。軽度または極く軽度に変色した貝柱は明度 16 で暗黄緑色乃至明るいオリーブ色を呈して正常品よりもやや暗色となり，これらの着色度は 12 乃至 14 未満に相当したが，明らかに変色したと判定し得る貝柱は明度 15 乃至 16, 多くは 16 以上で暗色となり，着色度も 15 以上となった。なお正常品及び変色が軽度なものは「色の標準」による彩色が 4 であったが，極端に変色して着色度が 15 以上のものは彩色は 4 乃至 3, 3 または 2 となっていた。また第 1 表に記した試料 13 は生貝柱筋肉を室温で徐々に乾燥したもので着色度 16 であったが，同じ生貝柱を 75° 乃至 105°C の高温で急激に乾燥した試料 14 は著しく暗色となり，着色度 33.48 を示した。以上の様に著者等の検討した着色度の表示法は肉眼による貝柱の色調判定を適確に表現出来た。

2. 貝柱製品の内外層の差異について

1) 製品に於ける内外層の成層

貝柱製品を製品中央部より縦断すると，その断面から肉眼的に濃厚な色調の内層部とより淡色な外層部とが観察されるが，この内外層の着色程度を前記の着色度の表示法によって確めた。

試料及び方法　青森県陸奥湾沿岸の貝柱加工場に於いて乾燥過程終期にあったホタテ貝柱 12 種 80 個体を入手し，各個体を筋肉纖維の方向に沿って製品の中央部より縦断し，その断面の色調により着色の淡い外層部と着色の濃厚な内層部に分割し，夫々前回同様 1～2 mm 角に刻んで水分と着色度を測定した。

Table 2. Difference of moisture and color grading between outer and inner parts of various kinds of *hotate-kaibashira*

No.	Judgement* on descoloration	Moisture(%) of		Color grading (E-value) of	
		inner part	outer part	inner part	outer part
1	—	17.5	20.6	9.04	9.73
2	—	16.8	19.2	9.15	9.63
3	—	18.0	20.8	9.12	9.42
4	—	19.7	22.3	9.07	9.36
5	－～∓	18.4	20.9	9.76	11.64
6	－～±	18.4	20.9	10.12	12.55
7	＋	18.4	21.4	15.44	17.03
8	＋	19.4	20.9	15.88	17.75
9	＋	21.4	22.5	14.75	16.34
10	＋	16.4	19.0	19.70	23.62
11	＋	18.8	21.3	16.22	18.07
12	＋	19.5	21.4	21.34	25.38

*....Judged by organoleptic test, i. e., (−)....normal quality, (∓)....very slightly deteriorated, (±)....slightly deteriorated and (+)....extremely deteriorated, respectively

結果と考察　観察及び測定結果は第 2 表に示した通りであるが，着色度の表示結果は内層外層の色調差を明らかに表現し，また正常着色品では両層間の着色度の差が 1 末満であったのに較べ，変色品ではその差が 1 以上 4 迄となり着色程度の著しい貝柱程内外層の着色差が大きいことが認められた。また第 2 表中の試料 6 は軽度に変色した貝柱で外層部の着色度は 12 末満で正常品の値を示すが，外層部の着色度は 12 以上となって軽度変色の値を示し，なお試料 5 についても之れに近い同様の傾向がみられ，これらの結果から変色は貝柱の内層部より進行することが認められる。なお水分も着色度同様内層部が外層部より 1 乃至 3% 程度多く，随って内層部の組織はより緻密であったが，以上の結果から肉眼によって観察された内外層の色調の差は組織の粗密による物理的なものでないことが明らかになった。

2)　乾燥過程の製品の成層

前記の如き貝柱製品にみられた水分と着色の成層は乾燥過程のどの段階で形成されるかについて検討を行った。

試料と方法　青森県陸奥湾沿岸の貝柱加工場に於いて乾燥途中のホタテ貝柱を乾燥経過日数別に 9 種類，90 個体を入手し，前項 1）の如く各個体の中央部断面の色調差により内外層に二分して色調の差を観察し，水分を測定した。

結果と考察　第 3 表に観察及び測定結果を示したが，製品各個体共乾燥の極く初期の過程に於いてすでに肉眼で判別出来る程度の内層外層の成層が形成され，内層部は外層部より水分多く，また着色も強く，この状態は乾燥過程が完了するまで持続した。乾燥過程半ば以後（第 3 表試料 5 以降）に内層と外層の水分の均一化を計る醗蒸操作が繰り返し行われるので，この段階で両層間の水分差は幾分減少したが，着色の差は傾向としてむしろ一層明確に判定出来るようになった。以上の如く製品各個体にみられる内外層の成層は乾燥初期段階に於いて発現し，この成層は乾燥過程が完了した後も継続して存在することが明らかとなったが当然この内層部の乾燥の遅滞が貝柱の着色に悪影響を及ぼし，変色の一因となっていると考えられる。

3.　製品の着色度と pH との関係

試料と方法　1）　青森県陸奥湾沿岸及び北海道常呂地方に於いて夏季製造された貝柱製品 133 個体

Table 3.　Differences in color and moisture content between outer and inner parts of *hotate-kaibashira*

No.	Time for drying	Judgement* on difference of color between outer and inner parts	Moistuer (%) of	
			inner part	outer part
1	6 hrs.	—	52 ～ 53	
2	1 day	± ～ +	31 ～ 37	43 ～ 48
3	2 〃	± ～ +	26.5	33.5
4	3 〃	± ～ +	21.7	28.7
5	16 〃	+	21.2	27.8
6	23 〃	++	20.8	24.6
7	30 〃	++	18.7	21.4
8	31 〃	++	17.9	21.0
9	41 〃	++	17.1	20.3

*....Judged by organoleptic test, i. e., (−)....no diffecence, (±)....slightly different, (+)....different, and (++)....extremely different, respectively

を着色の程度によって 14 種に分類して供試した。 2) 青森県陸奥湾沿岸に於いて夏季製造された製品を同様に着色程度によって7種類に分類したのち，更に各区分毎に個体内外層の色調差によって内層部と外層部に分けて供試した。これらの試料は各々 1~2 mm 角に刻んで前述の如く水分の均一化を計ったのち着色度を測定し，また試料筋肉の水抽出液[5] について pH メーター（東亜電波 K.K., DM-1A 型）を用いて pH を測定した。

Table 4. Color grading and pH value of various kinds of *hotate-kaibashira*

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Color grading (E-value)	9.45	9.32	9.94	10.05	10.95	11.20	11.39	11.65	11.97	12.50	13.68	18.15	20.85	21.73
pH value	6.65 ~ 6.70	6.75 ~ 6.80	6.65 ~ 6.70	6.80	6.65 ~ 6.70	6.80 ~ 6.85	6.75	6.70	6.65 ~ 6.70	6.70	6.60	6.40	6.45 ~ 6.50	6.40

結果と考察　測定結果は第 4 表，第 5 表に示した通りであるが，着色度が 15 以上の着色正常の貝柱及び軽度に変色した貝柱に於いてはその pH が 6.6 よりアルカリ側にあり，また着色度 15 以上の変色貝柱は pH 6.6 より酸性側の値を示した。また第 5 表から明らかな如く，同一個体を内層部と外層部に分けて測定すると，内層は外層よりも酸性側の値を示すものが多かった。この様に著者等が観察し得た範囲では貝柱の着色度と pH との間に一連の関連がある様に認められたが，これについてはなお継続して検討を行っている。

Table 5. Color grading and pH value of outer and inner parts of various kinds of *hotate-kaibashira* products

No.	Outer part		Inner part	
	Color grading (E-value)	pH value	Color grading (E-value)	pH value
1	9.05	6.80~6.85	9.58	6.70
2	9.07	6.75~6.80	9.19	6.70~6.75
3	9.28	6.70~6.75	11.48	6.65~6.70
4	10.86	6.70~6.75	12.41	6.70~6.75
5	15.36	6.55~6.60	17.45	6.45~6.50
6	19.87	6.40~6.45	23.59	6.40~6.45
7	21.52	6.60	24.82	6.55

要　　約

1) ホタテ貝柱製品の着色程度を数値で表示する方法を検討し，肉眼判定をほぼ適確に再現する方法を得たが，これによると着色正常なものは 9 乃至 12 未満，軽度に変色としたもの 12 乃至 15 未満，明かに変色したと認められるものは 15 以上の値を示した。

2) ホタテ貝柱の各個体はその乾燥過程に於いて内部に水分が多くまた着色の強い層が形成され，製品となってからもこの成層は存在するのがみられた。この内層部の乾燥の遅滞が製品の着色に悪影響をもたらし，変色の 1 因となることが考えられる。

3) 着色が正常な貝柱の pH は 6.6 を境界としてアルカリ側に，また変色貝柱の pH は 6.6 より酸性側に傾いており，また各個体の内層外層に於いても同様に着色の濃厚な内層がより酸性側の値を示すのがみられ，変色と pH との間に関連がある様に見受けられた。

文　　　　献

1) 永山文男 (1960). 日水誌 26, 1026.
2) 馬場春夫 (1960). 同　誌 26, 330.
3) 駒木　成・松村和子 (1960). 北水試月報 17, 103.
4) 小泉千秋・黒部宗市・野中順三九 (1959). 日水誌 25, 368.
5) 厚生省 (1959). 食品衛生検査指針 (II). 371p. 東京; 協同医書出版社.

北海道産淡水カジカ2種の成長に伴う前鰓蓋骨の形態変化

尾　身　東　美

(北海道大学水産学部水産動物学教室)

Morphological changes of the preopercular spines with the advance of growth in two freshwater sculpines in Hokkaido

Harumi OMI

Abstract

It is generally accepted that the number of preopercular spines is one of the most important specific characters in the genus *Cottus*, being 3 in *C. nozawae* SNYDER and 1 in *C. hangiongensis* MORI.

In the present paper, it is shown that the character changes with the advance of growth in *C. hangiongensis*; the individuals under 50 mm in total length are armed with 3 spines at first while one spine has degenerated and 2 spines remain in the individuals from 50 to 90 mm. Finally, only one spine persists in the individuals over 100 mm. In *C. nozawae*, the number does not change with the advance of growth and the preoperculum is always armed with 3 spines. There is not found any difference in number between males and females in both the species.

緒　　論

本邦産カジカ属 *Cottus* に関する分類学的研究は JORDAN & STARKS('04), 岡田・中村 ('48), 松原 ('55), 渡部 ('58), OKADA ('60) 等によって行われ，本邦産カジカ属として 4 又は 5 種が報告されているが，種名の異同に関しては尚疑義が多い。北海道産カジカに就いては SNYDER ('11), 佐藤・小林 ('51, '54) の報告がある。

筆者は北海道南部の河川に棲息する，ハナカジカ *Cottus nozawae* SNYDER, 及びカンキョウカジカ (キタノカジカ) *C. hangiongensis* MORI の 2 種に就いて，成長に伴う外部形態の変化を研究中，後者に於いて，カジカ属分類上重要な標徴の一つである前鰓蓋骨棘数が成長に伴って変化する事実を観察した。

本文に入るに先立ち，本研究の端緒を与えられた故佐藤信一教授に深甚なる謝意を表すると共に，懇篤なる指導と校閲の労をとられた北海道大学水産学部教授岡田彌博士，並びに終始指導助言を頂いた同大学水産学部小林喜雄講師に心より感謝する。

材 料 及 び 方 法

材料は佐藤・小林 ('51, '53, '54) の報告中にある上磯郡戸切地川において採集した。戸切地川にはハナカジカ及びカンキョウカジカの2種が棲息し，前者は上流部に多いが全域に，後者は中流より下流部に棲息する。又ハナカジカは3月下旬から4月中旬，カンキョウカジカは4月下旬より5月中旬

にかけ産卵し，時期的に所謂生殖隔離がなされている。稚魚は孵化後，恐らくは水流に押し流されて下流に至り，殆んど河口近くで生活すると推定される。6 月初旬 ('60 年 6 月 15 日，'61 年 6 月 7 日)，満潮時には海水の逆流する河口近くで 20 mm 以下の両種標本が多数採集されている。しかしその一部が鹹水域に迄達するか否かは未だ明らかでない。

筆者は三角網及び掬網 (GG 30 ミューラガーゼ製) を使用し，1960 年 3 月より 11 月迄の間に，ハナカジカ 579 個体 (全長 15.6～195.0 mm) 及びカンキョウカジカ 148 個体 (全長 17.2～163.0 mm) を採集したが，これ等の標本中より各々の成長過程を代表すると考えられる，ハナカジカ 50 個体 (全長 15.6～195.0 mm)，カンキョウカジカ 62 個体 (全長 17.2～163.0 mm) をとり形態の比較観察を行なった。両種の査定は外部計測の外，採骨又は超軟 X 線撮影による脊椎骨数の算定等によった。前鰓蓋骨は採骨後染色して観察した。

結 果

1) カジカ属前鰓蓋骨の形態

カジカ属の前鰓蓋骨 (Preopercle) は，その前縁が舌顎骨 (Hyomandibular) 外側及び節骨 (Articular) に連なる方骨 (Quadrate) の後突起に被いかぶさり，それ等と内側で密着する。その後縁内部にはトンネル状に感覚管が走り，4 個の感覚孔によって外開する。前鰓蓋骨棘はこれら感覚孔間に発達し，第 1 棘は第 1 感覚孔と第 2 感覚孔間に存在する。第 2，第 3 棘は夫々第 2～3，及び 第 3～4 感覚孔間にある。

2) ハナカジカの成長に伴う前鰓蓋骨棘の変化

観察した標本は 50 個体で第 1 表に示す如く，眼径の大きさを除けば体の主なる形態は最少個体

Table 1. Measurements of *Cottus nozawae* SNYDER

Number of samples	20	15	15
Total length	15.6～50 mm	51～100 mm	101～195 mm
	Range (Average)	Range (Average)	Range (Average)
Total L. in Head L.	3.9～4.5 (4.1)	3.8～4.4 (4.1)	3.4～4.3 (3.9)
H. L. in Depth of caudal peduncle	3.6～4.3 (3.9)	3.5～4.4 (4.2)	3.6～4.9 (4.1)
H. L. in Diamater of orbit	3.2～4.0 (3.7)	3.8～5.6 (4.9)	4.4～6.5 (5.4)
	Number (Specimens number)	Number (Specimens number)	Number (Specimens number)
Number of 1st D.	VIII(15), IX(3)	VIII(7), IX(8)	VIII(8), IX(7)
Number of 2nd D.	17(1), 18(10), 19(6), 20(1)	18(4), 19(7), 20(4)	18(5), 19(10)
Number of P. (right)	14(2), 15(13), 16(3)	14(1), 15(13), 17(1)	14(1), 15(11), 16(2), 17(1)
Number of P. (left)	14(2), 15(12), 16(4)	14(1), 15(12), 16(2)	14(2), 15(12), 16(1)
Number of A.	14(8), 15(7), 16(3)	14(4), 15(10), 16(1)	14(7), 15(7), 16(1)
Number of V.	I-4(18)	I-4(15)	I-4(15)
Number of vertebrae	36(6)	36(2)	36(4)
Number of spines on the preopercle	3	3	3

Date: March to Nov. 1960; Loc: Hekirichi River near Hakodate

15.6 mm で既に完成する。

前鰓蓋骨について見ると，全長 26.2 mm (図版 1; A) の個体では第 1 棘は上方に，第 2 棘は後下方に，第 3 棘は下方に向う。又第 4 感覚孔と前鰓蓋骨末端部孔との間は隆起し第 4 棘又は第 4 棘目の原基の如く観察される。この様な形態は全長約 50 mm 以下の個体に見られるが，全長 50 mm 以上の個体では図版 1; B, C, D, に示す如く，3 棘のみが明瞭に存在し，棘数には変化がない。又雌雄による差異は見られなかった (図版 1; C, D)。

全長と前鰓蓋骨棘数の関係は第 1 図に示す如くである。

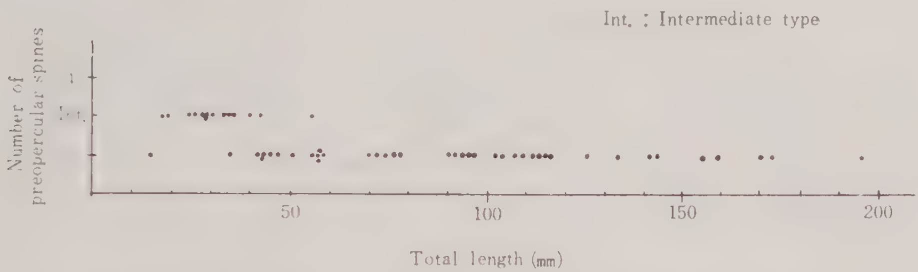


Fig. 1. Scatter diagram showing the relation of total length and number of preopercular spines in *C. nozawae:* The individuals under about 45 mm in T. L. are of the intermediate type with from 4 to 3 spines; those over about 50 mm in T. L. are armed with 3 spines

Table 2. Measurements of *Cottus hangiongensis* Mori

Number of samples	21	21	20
Total length	17.2～50 mm	51～100 mm	101～163 mm
	Range (Average)	Range (Average)	Range (Average)
Total L. in Head L.	4.1～5.1 (4.5)	4.1～5.0 (4.4)	4.2～5.2 (4.6)
H. L. in Depth of caudal peduncle	2.7～3.4 (3.0)	2.2～3.4 (2.7)	2.1～3.2 (2.7)
H. L. in Diamater of orbit	2.7～3.9 (3.7)	3.5～4.6 (4.1)	3.9～6.6 (4.3)
	Number (Specimens number)	Number (Specimens number)	Number (Specimens number)
Number of 1st D.	VIII(4), IX(17)	VIII(3), IX(17), X(1)	VIII(6), IX(14)
Number of 2nd D.	20(4), 21(8), 22(9)	20(2), 21(10), 22(7), 23(2)	21(13), 22(7)
Number of P. (right)	13(2), 14(19)	13(1), 14(19), 15(1)	13(1), 14(19)
Number of P. (left)	13(1), 14(20)	13(1), 14(19), 15(1)	13(2), 14(18)
Number of A.	15(3), 16(12), 17(6)	15(2), 16(14), 17(4), 18(1)	16(17), 17(3)
Number of V.	I-4(21)	I-4(21)	I-4(20)
Number of vertebrae	37(6)	37(5), 38(1)	37(4)
Number of spines on the preopercle	3	3～1	1

Date: March to Nov. 1960; Loc: Hekirichi River near Hakodate

3) カンキョウカジカの成長に伴う前鰓蓋骨棘の変化

観察した標本は 62 個体で第2表に示す如く，眼の大きさ，前鰓蓋骨棘を除いては成長に伴う主なる形態上の変化は認められない。

前鰓蓋骨は図版 1; E に示す如く全長 34.4 mm の個体で明らかに 3 棘が発達し，全長約 50mm 以下ではこのような形態の個体が多い。但し全長 30～40 mm の個体では 第 4 感覚孔と前鰓蓋骨末端部孔との間に第 4 棘に該当すると考えられる小隆起が見られる。更に全長 70.8 mm (図版 1; G) の個体では第 1, 第 2 棘はよく発達するが，第 3 棘は見られない。このような形態は約 50～90 mm の個体で観察される。尚 3 棘から 2 棘への移行形と考えられる中間形，即ち第 3 棘目の存在した部分が多少隆起している個体が 50 mm 前後の標本で観察される (図版 1; F)。更に全長約 90 mm 以上の個体では図版 1; I, J に示す如く第 2, 第 3 棘目は痕跡的隆起となり第 1 棘のみ存在する。但し全長 90 mm 前後の個体には 2 棘より 1 棘への移行形と考えられる個体が観察される (図版 1; H)。カンキョウカジカに於いてもハナカジカ同様雌雄による差異は認められない。尚 2 棘を有する 50～90 mm の個体は多く成熟個体である。

全長と前鰓蓋骨棘数との関係は第2図に示す通りである。

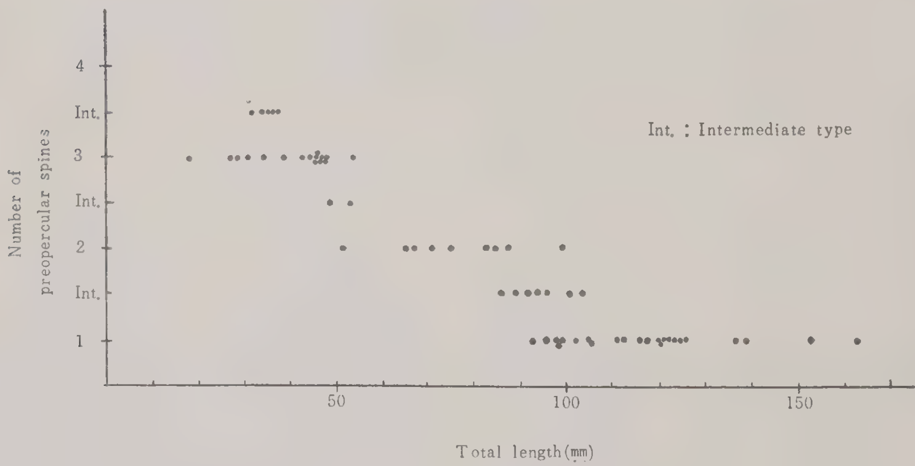


Fig. 2. Scatter diagram showing the relation of total length and number of preopercular spines in *C. hangiongensis:* The individuals under about 50 mm in T. L. are armed with 3 spines; from 50 to 90 mm in T. L. armed with 2; over about 100 mm in T. L. armed with 1; the intermediate types are about 50 mm and about 100 mm in T. L.

考　　察

従来本邦産カジカ属の種の異同に関しては疑義が多く可成り種名の混乱がある。前鰓蓋骨棘数はカジカ属分類上重要な標徴の一つであるが，筆者は北海道産淡水カジカ2種の前鰓蓋骨を観察し，カンキョウカジカに於いて，成長に伴って 3 棘より 1 棘へと変化することを知った。更に 2 棘を有する 50～90 mm の個体の中，多くが成熟魚である点は注意を要する。

ツマグロカジカ *Gymnocanthus herzensteini* Jordan & Starks, ニジカジカ *Alcichthys*

alcicornis (HERZENSTEIN), オニカジカ *Ceratocottus diceraus* (PALLAS) に就いては前鰓蓋骨最上棘分枝数の変異が知られており，渡部('58)により成長による変化である事が明らかにされているが，カジカ属に於いても成長過程，地域的変異をも考え合せて前鰓蓋骨棘を考察する必要があろう。

要　　約

1) 1960年3月～11月の間，北海道南部戸切地川よりハナカジカ *Cottus nozawae* SNYDER 全長15.6～196.0 mm (579個体)，カンキョウカジカ *C. hangiongensis* MORI 全長17.2～163.0 mm (147個体) を得た。

2) 各鰭条数，脊椎骨数は両種共，最小個体で既に成魚の定数に達する。

3) カジカ属分類上重要な標徴である前鰓蓋骨棘数が，種類により成長に伴って変化する事実が明らかにされた。即ち，ハナカジカでは35 mm前後の個体で4棘目の痕跡を有する場合があるが，他は完全に3棘を有する。然るに従来1棘とされていたカンキョウカジカに於いては約50 mm以下3棘，約50～90 mm 2棘を有し，100 mm以上の個体で初めて1棘となる。但し両種共雌雄による差異は認められなかった。

4) カンキョウカジカの成熟魚の中，約50～90 mmの個体には2棘を有するものが多数見い出された。

文　　献

1) Jordan, D. S. & Starks, E. C. (1904). A review of the Cottidae or sculpines found in the waters of Japan. *Proc. U. S. Mus.* 27 (1358), 231～335.

2) 松原喜代松 (1955). 魚類の形態と検索. I～III, 1605 p. 東京；石崎書店.

3) Mori, T. (1930). On the fresh water fishes from the Tumen River, Korea, with descriptions of new species. *Jour. Chosen Nat. Hist.* (11), 54～70.

4) Okada, Y. (1960). Studies on the freshwater fishes of Japan. *Jour. Fac., Prefectural Univ. Mie.* 4 (3), 1～860.

5) 岡田弥一郎・中村守純 (1948). 日本の淡水魚類. 199 p. 大阪；日本出版社.

6) 佐藤信一・小林喜雄 (1951). 北海道南部に於ける淡水産カジカ類について. 北大水産彙報 1 (3・4), 129～133.

7) ・ (1953). 淡水産カジカ類の生態に就いて. 同誌 3 (4), 233～239.

8) ・ (1954). Notes on the ichthyofauna of the fresh water in Hokkaido, Japan. *Ibid.* 4 (4), 268～295.

9) Snyder, J. O. (1911). Descriptions of new genera and species of fishes from Japan and the Riu-kiu Islands. *Proc. U. S. Nat. Mus.* 40 (1836), 535～549.

10) 渡部正雄 (1958). 日本産カジカ科魚類の研究. 461 p. 東京；角川書店.

EXPLANATIONS OF PLATES

PLATE I

Preopercular spines of *C. nozawae* SNYDER (A~D) and *C. hangiongensis* MORI (E~J). (Each scale represents 1 mm.)

A) T. L. 26.2 mm (4–3 intermediate type)
B) T. L. 70.3 mm (3 spines type)
C) T. L. 107.4 mm ♀
D) T. L. 112.0 mm ♂
E) T. L. 34.4 mm (3 spines type)
F) T. L. 53.5 mm (3–2 intermediate type)
G) T. L. 71.8 mm ♀ (2 spines type)
H) T. L. 91.3 mm ♂ (2–1 intermediate type)
I) T. L. 111.8 mm ♀ (1 spine type)
J) T. L. 126.0 mm ♂



Omi: Preopercular spines in two freshwater sculpines

ICHTHYOFAUNA OF OSHORO BAY AND ADJACENT WATERS

Kiyu KOBAYASHI

Faculty of Fisheries, Hokkaido University

Oshoro Bay is situated at ca. 14.5 km west of Otaru Harbour in Hokkaido, facing the Japan Sea. Additional to the fact that the bay and adjacent waters are rich in the variety of habitat, the waters are influenced by a cold current from winter to spring and by the Tsushima warm current from summer to autumn. Therefore, the fauna of the waters is abundant and various.

On the ichthyofauna of the waters, about 147 species have been recorded by Mr. Toyoji Hikita (unpublished), since the Oshoro Marine Biological Station of Hokkaido University was established in 1908. With the exception of his manuscript, there are only two reports on the ichthyofauna of the Japan Sea coast of Hokkaido; Hikita & Misu ('51) and Kobayashi ('60).

The present list was made under the guidance of the late Prof. Shin-ichi Satō of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University. Most specimens were collected since 1957 within the bay and from the adjacent waters by means of trinal nets, long lines, drag nets or in the course of shore sampling while the rest were taken from the fishing grounds off the bay and the adjacent waters by means of herring set nets, flatfish gill nets or sand lance set nets.

Thirty-seven families including 59 genera and 75 species are described in the present list. Most of them live within the bay at all times of the year, about 18 species among them being important for fisheries. *Oncorhynchus gorbuscha* and *O. masou* were collected off shore at the time of migration in spring. *Clupea pallasii* and *Padoseeus sachi* migrate within the bay at their spawning seasons. Some cottoid and flat fishes were collected only from comparatively deep waters off shore. Some of the rare species are thought to be strangers carried by the warm current.

The author wishes to express his cordial thanks to the late Prof. Shin-ichi Satō and Prof. Shun Okada of Fac. Fish., Hokkaido Univ. for their various sorts of advice and kind encouragement in the prosecution of the work. His thanks are offered also to Dr. Hidejiro Niiyama, Dr. Keikichi Hamada, Mr. Takao Igarashi, Mr. Tamezō Yamazaki, Mr. Kazuro Shinta, Mr. Tadataka Takahashi, and Mr. Isao Yoshizaki for their valuable help in the collecting of the specimens.

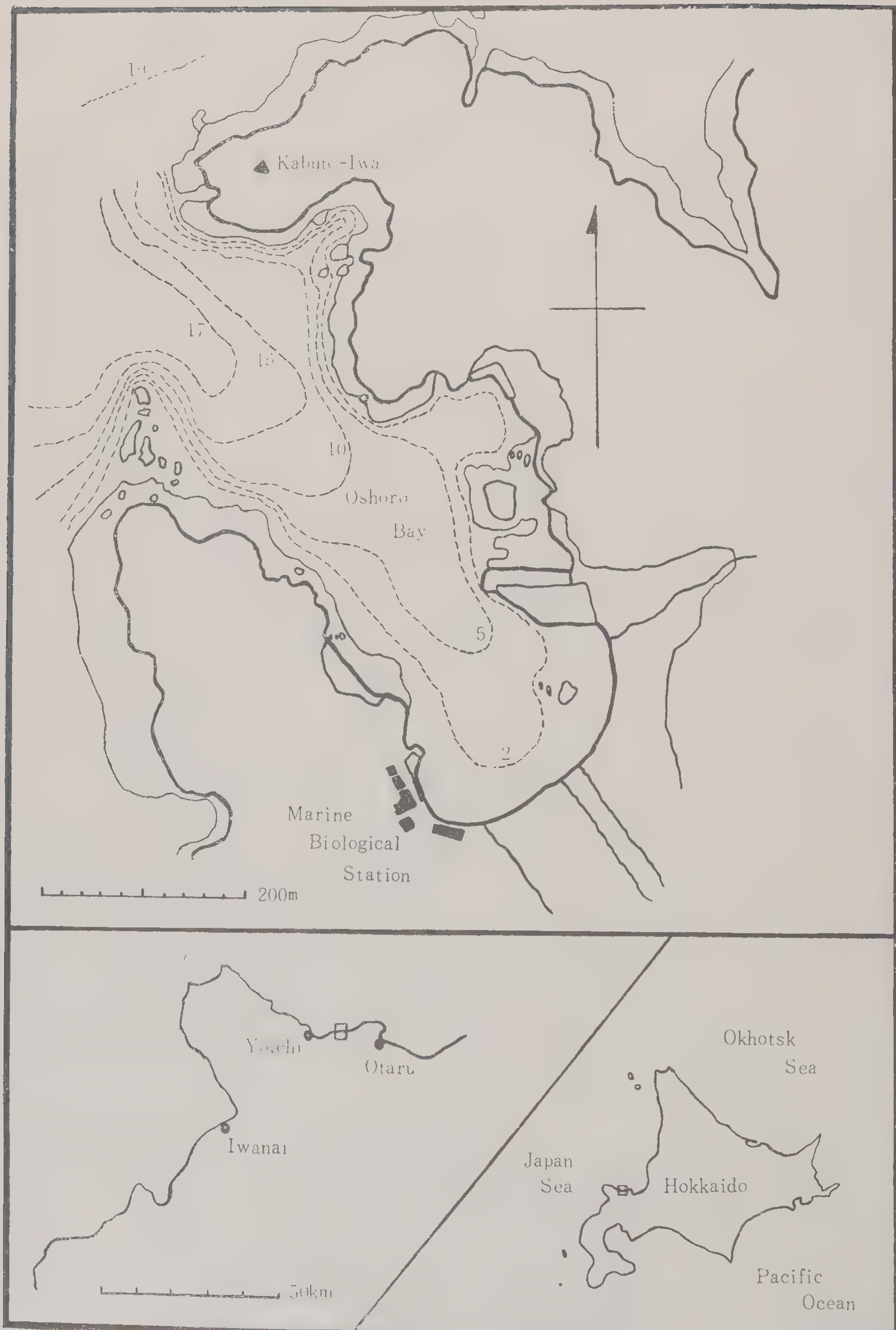


Fig. 1. Oshoro Bay and adjacent coast-line in Hokkaido, Japan

Family **Triakidae**

1. *Mustelus manazo* BLEEKER

Nom. Jap. Hoshi-zame

Common; caught in various places off shore by means of bottom gill nets and within the bay by means of trinal nets in spring.

Family **Rajidae**

2. *Raja pulchra* LIU

Nom. Jap. Megane-kasube

Common; caught in various places off shore by means of bottom gill nets.

Family **Clupeidae**

3. *Clupea pallasii* CUVIER & VALENSIENNES

Nom. Jap. Nishin

Rather common; migrate into the bay in spring; young are sometimes obtained within the bay and from the adjacent waters at any time of the year by means of trinal nets and drag nets.

Family **Engraulidae**

4. *Engraulis japonica* (HOUTTUYN)

Nom. Jap. Katakuchi-iwashi

Common; found within the bay and from the adjacent waters from spring to winter.

Family **Salmonidae**

5. *Oncorhynchus gorbuscha* (WALBAUM)

Nom. Jap. Karafuto-masu

Common; migrating off coast of the bay and adjacent waters in spring, mainly caught by means of salmon long line fishing.

6. *Oncorhynchus keta* (WALBAUM)

Nom. Jap. Sake

Rather common; young are collected from the inner coast within the bay from spring to summer.

7. *Oncorhynchus masou*(BREVOORT)

Nom. Jap. Sakura-masu (Ma-masu)

Common; migrating off coast in the adjacent waters in spring.

Family **Plecogllossidae**

8. *Plecogllossus altivelis* TEMMINCK & SCHLEGEL

Nom. Jap. Ayu

Rather rare; collected from the inner coast within the bay in spring.

Family **Osmeridae**

9. *Hypomesus olidus* (PALLAS)

Nom. Jap. Wakasagi

Common; collected from the inner coast of the bay in summer.

10. *Hypomesus japonicus* (BREVOORT)

Nom. Jap. Chika

Common; mainly collected within the bay and on the shore of Ranshima at all times of the year by means of drag nets.

Family **Salangidae**

11. *Salangichthys microdon* BLEEKER

Nom. Jap. Shira-uwo

Common; mainly collected within the bay and in adjacent waters in spring.

Family **Cyprinidae**

12. *Tribolodon hakonensis hakonensis* (GÜNTHER)

Nom. Jap. Ugui

Very common; found within the bay and in adjacent waters at all times of the year.

Family **Scombresocidae**

13. *Cololabis saira* (BREVOORT)

Nom. Jap. Sanma

Common; caught at many places off shore from summer to autumn.

Family **Hemiranphidae**

14. *Hemiramphus sajori* (TEMMINCK & SCHLEGEL)

Nom. Jap. Sayori

Rather rare; collected on the shore of Ranshima and in adjacent waters in summer.

Family **Gasterosteidae**

15. *Gasterosteus aculeatus aculeatus* (LINNÉ)

Nom. Jap. Itoyo

Rather rare; collected from the shore within the bay in spring.

Family **Aulorhynchidae**

16. *Aulichthys japonicus* Brevoort

Nom. Jap. Kuda-yagara

Rather rare; collected from the inner coast of the bay in spring.

Family **Syngnathidae**

17. *Syngnathus schlegeli* Kaup

Nom. Jap. Yōji-uwo

Rather common; found in the so-called "Mo-ba" within the bay and in adjacent waters from spring to summer, by means of drag nets, set nets, etc.

18. *Hippocampus japonicus* Kaup

Nom. Jap. Kita-no-umi-uma

Very rare; one specimen collected from a shore near the bay in spring.

Family **Trichodontidae**

19. *Arctoscopus japonicus* (Steindachner)

Nom. Jap. Hatahata

Rather rare; young were collected from the inner shores within the bay in spring.

Family **Oplegnathidae**

20. *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel)

Nom. Jap. Ishidai

Rather rare; caught within the bay in summer as an item in shore sampling.

Family **Girellidae**

21. *Girella punctata* Gray

Nom. Jap. Mejina

Very rare; larval specimens collected at the tide pool within the bay in summer; perhaps strangers brought by the warm current.

Family **Callionymidae**

22. *Callionymus beniteguri* Jordan & Snyder

Nom. Jap. Tobinumeri

Common; collected on the sandy bottoms within the bay and in shore waters at Ranshima by means of drag nets and trinal nets.

Family **Ammodytidae**

23. *Ammodytes personatus* GIRARD

Nom. Jap. Ikanago

Very common; one of the most abundantly taken within the bay and in adjacent waters; mainly caught by means of sand lance set nets from spring to summer.

Family **Hypoptychidae**

24. *Hypoptychus dybowskii* STEINDACHNER

Nom. Jap. Shiwa-ikanago

Rather rare; materials in breeding season were collected within the bay in spring, by means of drag nets.

Family **Anarhichadidae**

25. *Anarhichas orientalis* PALLAS

Nom. Jap. Ōkami-uwo

Very rare; one specimen was collected from the deep off Oshoro Bay.

Family **Pholidae**

26. *Soldatovia polyactocephalum* PALLAS

Nom. Jap. Kita-fusa-ginpo

Common; found within the bay; mainly caught by means of trinal nets at all times of the year.

27. *Opisthocentrus ocellatus* (TILESIUS)

Nom. Jap. Gaji

Common; found on shores within the bay and in adjacent waters; collected by means of drag nets and as an item in shore sampling.

28. *Opisthocentrus zonope* JORDAN & SNYDER

Nom. Jap. Oki-kazunagi

Rather common; collected within the bay in summer, by means of drag nets.

29. *Pholis fasciatus* (BLOCH & SCHNEIDER)

Nom. Jap. Himo-ginpo

Common; found on shores within the bay and in adjacent waters; collected by means of drag nets and as an item in shore sampling.

30. *Pholis ornatus* (GIRARD)

Nom. Jap. Aya-ginpo

Common; found within the bay; collected by means of drag nets, trinal nets

and as an item in shore sampling.

Family **Stichaeidae**

31. *Ernogrammus hexagrammus* (TEMMINCK & SCHLEGEL)

Nom. Jap. Musuji-gaji

Common; found within the bay; collected by means of drag nets, etc.

32. *Stichaeus grigorjewi* HERZENSTEIN

Nom. Jap. Naga-zuka

Rather common; mainly caught off the bay and adjacent waters in spring by means of flat fish gill nets.

Family **Gobiidae**

33. *Tridentiger trigonocephalus* (GILL)

Nom. Jap. Shima-haze

Rare; collected at the inner shores within the bay in summer by means of drag nets.

34. *Rhinogobius gymnauchen* (BLEEKER)

Nom. Jap. Hime-haze

Rare; collected at the inner shores within the bay in summer by means of drag nets.

35. *Pterogobius zacalles* JORDAN & SNYDER

Nom. Jap. Ryūgū-haze

Very rare; collected at the shore within the bay in summer by angling.

36. *Chaenogobius urotaenia* (HILGENDORF)

Nom. Jap. Ukigori

Very common; found near the shore within the bay and shores of adjacent waters at all times of the year.

Family **Embiotocidae**

37. *Ditrema temmincki* BLEEKER

Nom. Jap. Umi-tanago

Rather common; found within the bay and the shores of adjacent waters at all times of the year; collected by means of trinal nets, drag nets, etc.

Family **Tetraodontidae**

38. *Fugu poecilonotus* (TEMMINCK & SCHLEGEL)

Nom. Jap. Komon-fugu

Rare; collected within the bay in spring by means of drag nets.

Family **Scorpaenidae**

39. *Sebastes taczanowskii* (STEINDACHNER)
Nom. Jap. Ezo-mebaru (Gaya)

Very common; one of the typical shore fish in the bay and of the adjacent waters, the principal species for shose angling at all times of the year; many specimens were collected by means of trinal nets, drag nets, etc.

40. *Sebastes schlegeli* HILGENDORF
Nom. Jap. Kuro-soi

Common; found in the bay and adjacent waters at all times of the year; collected by means of trinal nets and by angling.

41. *Sebastes vulpes* STEINDACHNER & DÖDERLEIN
Nom. Jap. Kitsune-mebaru

Rather rare; collected by means of trinal nets within the bay in summer.

42. *Sebastes pachycephalus pachycephalus* (TEMMINCK & SCHLEGEL)
Nom. Jap. Mura-soi

Rather common; found within the bay and in adjacent waters at all times of the year; collected by means of trinal nets, etc.

43. *Sebastes pachycephalus chalcogrammus* MATSUBARA
Nom. Jap. Akabuchi-murasoi

Rare; collected within the bay in summer by means of trinal nets.

44. *Sebastes trivittatus* HILGENDORF
Nom. Jap. Shima-soi

Rare; collected within the bay in summer by means of trinal nets.

45. *Sebastes nivosus* HILGENDORF
Nom. Jap. Goma-soi

Rather rare; collected at the mouth of the bay in summer and autumn by means of trinal nets.

Family **Hexagrammidae**

46. *Pleurogrammus azonus* JORDAN & METZ
Nom. Jap. Hokke

Very common; one of the important species for the fishery industry on the coasts of these waters.

47. *Hexagrammos otakii* JORDAN & STARKS
Nom. Jap. Ainame (Aburako)

Very common; one of the typical shore fish within the bay and in adjacent

waters; the principal species for shore angling at all times of the year; many specimens were collected by means of trinal nets, etc.

Family Cottidae

48. *Ceratocottus diceraus namiyei* JORDAN & STARKS

Nom. Jap. Oni-kajika

Rather common; found at the deep off the bay and adjacent waters at all times of the year; mainly caught by means of trinal nets and flat fish gill nets.

49. *Myoxocephalus stelleri raninus* JORDAN & STARKS

Nom. Jap. Gisu-kajika (Local name: Nabe-kowashi)

Very common; found on the shores within the bay and of the adjacent waters at all times of the year; collected by means of trinal nets, etc.

50. *Gymnocanthus herzensteini* JORDAN & STARKS

Nom. Jap. Tsumaguro-kajika Lacal name: Gisu-kajika)

Very common; caught off this waters by means of flat fish gill nets at all times of the year.

51. *Gymnocanthus ventralis* (CUVIER & VALENCIENNES)

Nom. Jap. Ai-kajika

Rather common; collected within the bay and off these waters by means of trinal nets and flat fish gill nets, etc.

52. *Alcichthys alcicornis* (HERZENSTEIN)

Nom. Jap. Niji-kajika

Rather common; collected in the bay in spring, by means of trinal nets.

53. *Pseudoblennius cottoides* (RICHARDSON)

Nom. Jap. Asahi-ana-haze

Rather common; found in the inner part within the bay.

54. *Bero elegans* (STEINDACHNER)

Nom. Jap. Bero

Common; collected on the shores within the bay and of the adjacent waters at all times of the year by means of trinal nets and drag nets, etc.

55. *Blepsias cirrhosus draciscus* JORDAN & STARKS

Nom. Jap. Isoba-tengu (Local name: Sachiko)

Common; found at the so-called "Mo-ba" within the bay and in adjacent waters; collected at all times of the year by means of trinal nets and drag nets etc.

56. *Hemitripterus villosus* (PALLAS)

Nom. Jap. Kemushi-kajika (Local name: Tōbetsu-kajika)

Common; caught in the deep off these waters by means of flat fish gill nets, etc., some specimens were found within the bay in winter and collected by means of trinal nets.

Family **Agonidae**

57. *Pallasina eryngia* JORDAN & RICHARDSON

Nom. Jap. Higenaga-yagi-uwo

Rare; young were collected on the inner coast within the bay in spring.

58. *Podothecus sachi* (JORDAN & SNYDER)

Nom. Jap. Tokubire

Common; found within the bay and on the shores of adjacent waters in spring (April and May); many specimens were obtained by means of trinal nets.

Family **Triglidae**

59. *Lepidotrigla microptera* GÜNTHER

Nom. Jap. Kanagashira

Rather common; found in the deep off these waters from spring to summer; collected by means of flat fish gill nets.

Family **Cyclopteridae**

60. *Aptocyclus ventricosus* (PALLAS)

Nom. Jap. Hotei-uwo

Rather common; collected within the bay and in adjacent waters in winter by means of trinal nets.

Family **Liparidae**

61. *Liparis takashimensis* NOJIMA

Nom. Jap. Takashima-kusa-uwo

Rare; collected in the inner part within the bay in autumn by means of drag nets.

62. *Liparis agassizii* PUTNAM

Nom. Jap. Ezo-kusa-uwo

Rather rare; collected from the Hokke-Ma near the bay in spring.

Family **Bothidae**

63. *Paralichthys olivaceus* (TEMMINCK & SCHLEGEL)

Nom. Jap. Hirame

Common; one of the important species in these waters; mainly caught by

means of flat fish gill nets.

Family **Pleuronectidae**

64. *Hippoglossoides dubius* (SCHMIDT)

Nom. Jap. Aka-garei

Common; one of the important species in these waters; mainly collected by means of flat fish gill nets from the deep off the bay and in adjacent waters.

65. *Cleisthenes herzensteini* (SCHMIDT)

Nom. Jap. Sō-hachi

Common; one of the important species in these waters; mainly collected off bay and from adjacent waters by means of flat fish gill nets.

66. *Eopsetta grigorjewi* (HERZENSTEIN)

Nom. Jap. Mushi-garei

Common; rather important species in these waters; mainly collected off the bay and from adjacent waters by means of flat fish gill nets.

67. *Lepidopsetta mochigarei* SNYDER

Nom. Jap. Asaba-garei

Common; rather important species in these waters; mainly collected off the bay and from adjacent waters by means of flat fish gill nets.

68. *Limanda punctatissima* (STEINDACHNER)

Nom. Jap. Suna-garei

Very common; found within the bay and in adjacent waters; caught at all times of the year by means of flat fish gill nets, trinal nets, drag nets and by angling.

69. *Limanda herzensteini* JORDAN & SNYDER

Nom. Jap. Ma-garei

Common; one of the important species in these waters; caught by means of flat fish gill nets, trinal nets and by angling.

70. *Limanda schrenki* SCHMIDT

Nom. Jap. Kurogashira-garei

Very common; found within the bay at all times of the year caught by means of flat fish gill nets, trinal nets and by angling.

71. *Limanda yokohamae* (GÜNTHER)

Nom. Jap. Mako-garei

Rather rare; collected within the bay from spring to summer by means of trinal nets.

72. *Platichthys stellatus* (PALLAS)

Nom. Jap. Numa-garei

Rather common; collected off shores in these waters in winter by means of flat fish gill nets.

73. *Glyptocephalus stelleri* (SCHMIDT)

Nom. Jap. Hireguro (Local name: Nameta)

Common; rather important species in these waters; caught from winter to spring by means of flat fish gill nets and trinal nets.

Family **Gadidae**

74. *Theragra chalcogramma* (PALLAS)

Nom. Jap. Suketō-dara

Very common; one of the important species in these waters; mainly caught off shore in winter.

Family **Lophiidae**

75. *Lophius litulon* (JORDAN)

Nom. Jap. Ki-ankō

Common; found in the deep off these waters; collected with flat fish by means of flat fish gill nets and trinal nets.

Bibliography

Hikita, T. & Misu, H. (1951). Study of the fishes (1950). *Reports on the northern Japan deep sea fisheries*, III, 1–70. (in Japanese)

Kobayashi, K. (1960). Larvae and young fishes collected around the current rip in Ishikari Bay. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 11 (3), 106-118.

船の動揺のスペクトラム解析機について

川 島 利 兵 衛
(北海道大学水産学部船舶運用学教室)

On a Spectrum Analyser for Ship's Oscillations

Rihei KAWASHIMA

Abstract

According to the several papers concerning studies of ship's oscillations in a seaway, their frequency domains are in the range from 0.03 c/s to 1.00 c/s. In order to analyse these low frequency phenomena, a wave analyser, analog type, was designed and tested.

This instrument consists of 4 parts, viz: a function generator, computer, servo system and recorder. An overall view of the instrument and a diagram illustrating its principle are shown in Photo. 1 and Fig. 1, respectively.

As to the diagram of Fig. 1, the film on which the ship's oscillations to be analysed are recorded is placed on a variable speed rotating wheel whose surface is plated with chrome for reflecting the light and made periodically by repetition. Thus, the ship's oscillations which are converted to electrical signals are regenerated by the photoelectrical system. Those signals are put into the filter circuit, then rectified, amplifired and applied in the recorder which is controlled by the servo system. Changing the speed of rotation of the rotating wheel to slow down from maximum speed under frictional forces, which has the same effect as using the filter continuously in the above noted frequency range, one obtains a continuous spectrum of the ship's oscillations.

In this instrument, the specified items are as follow:

(1)	Diameter of the rotating wheel:	54.0 cm
(2)	Maximum speed of the rotating wheel:	360.0 RPM
(3)	Wave length able to be analyses:	From 0.1 cm to 3.0 cm on the film
(4)	Value of tuned circuit:	312 c/s, Q=32
(5)	Timed needed for analyses:	About 18 minutes
(6)	Errors:	Below 13%

The author calculated test examples by means of this instrument. They are shown in Figs. 8, 9, 10 and 11.

1 緒　　言

海洋波及び大洋を航行する船が海洋波によって誘起される動揺は，1 c/s 以下の超低周波の極めて不規則な変動現象である。これらの現象の解析を目的として 0.03 c/s から 1 c/s の周波数範囲を解析できる波形分析機を設計した。

この種の解析機には，N. F. Barber, F. Usell, M. J. Tuker 等[1]によって設計された海洋波の解析を目的とするフーリエ解析機がある。観測によって得られた波形の一定の時間の長さを一周期とし

て電気的な波形にかえて演算するアナログ型計算機で，4 吋巾の演算用記録紙に波形を白黒にして再現し回転円筒の周面に沿わせて巻き，これに線光源からの光を波形に対して直角方向に当てその反射光を光電管によって取り出すと，波形は電気的に変換される，又円筒の回転速度に従って周波数変換もされる。この電気的な波形を増巾して電磁オッシロのガルバーに導くと，その同調特性がフィルターの役割をして同調周波数に対応する成分だけを取り出し，且つ円筒の回転速度を連続的に変えると，連続したフーリエスペクトラムが得られる。同じ様な方式を用いて，T. B. Whiteley 等[2] は回転円筒に直径 12 吋のプラスチックドラムを使用し，35 mm フィルムに演算する波形を記録し，記録の光電変換には透過光を，又 CR フィルター回路を演算に用いている。

最近では，東大地震研究所の波形解析機も同じ様な方式を用いている。更に気象研究所の MERIAC-IF はフーリエ解析用電子計算機[3]として海洋波の解析を目的として製作され，その分析精度は 1.5% と発表されている。

海洋波によって誘起される船の動揺の解析については，スペクトラム解析が用いられている。例えば，種々の条件の下における動揺のスペクトラムの比較，例としては 3 種の船型を選んで船速，針路，海面の状態によって示される船型間の耐波性の差についての資料としての航行中の動揺のスペクトラム，或いは波浪中波の進行方向と船の針路との相対角に対する動揺のスペクトラム等[4] がある。更に定量的な解析として動揺の線型理論に基いて海洋波のスペクトラムが求められとその波による船の動揺のスペクトラムを求めれば両者の線型関係から船の動揺の応答を知ることが出来る。

本文にのべる解析機の構成は大別して次の 3 項になる。

1) 函数発生装置　　2) 演算装置　　3) 演算出力記録装置

設計に当って，型式は相似型計算機とした。その機構は，光電系によって変換された電気的変動を一定値のフィルターによってそのフーリエ成分を取り出し，*XY* レコーダー方式によって *Y* 軸に，*X* 軸に周波数をとってサーボ機構により走査せしめ連続スペクトラムを記録する。

次に，解析せんとする周波数範囲を決めるために，動揺論の立場から重要な意味のある船体動揺の固有周期を考慮した。即ち，横揺れの周期は 3 秒 (0.33 c/s) から 15 秒 (0.067 c/s)，縦揺れ及び上下揺れは 2 秒 (0.5 c/sec) から 7秒 (0.14 c/sec) である。 更に船の動揺を誘起する原因となる海洋波の周期は 1 秒 (1 c/sec) から 30 秒 (0.033 c/sec) 程度である。

又，解析せんとする記録の時間の長さは 15 分から 20 分の連続観測について，解析フィルム上 1 秒間を 1 至乃 2 mm の長さとして再現することを基準とし，周波数範囲の決定と相俟ってフィルターの値及び Q を決めた。

著者はこの解析機によって海洋波による船の動揺についての実験の解析を試みたので報告する。

2　海洋波による船の動揺のスペクトラム解析

1) 解析のための動揺記録からのサンプリング。[5][6]

船の動揺，例えば横揺れ角，縦揺れ角又は波の高さ，傾斜等の時間的変化はある時間区間 $[-t, t]$ で定義される一価連続函数 $X=f(t)$ で表わすことができる。よって海上に於いて計測される船の動揺のある時間の連続記録は，計測機器の特性を考えないとすると上に定義された部分区間における連続函数となる。

即ち，　　部分区間 $[t_0,\ t_0+T]$　　$X_i=f_i(t)$　　(1)

この様に定義されている時系列の周波数スペクトルは $f(t)$ のフーリエ変換として次式で与えられる。

$$F(\omega)=\int_{-\infty}^{\infty} f(t)\,e^{-j\omega t}\,dt \qquad \text{但し}\quad \omega=\frac{2\pi}{T} \qquad (2)$$

解析機によって実測して得た動揺の連続記録から周波数スペクトルを演算する場合，記録されている函数 $f_i(t)$ を等時隔 Δt 毎にディヂタルに読み取り，解析用フィルム上に再現する。これは函数 $f_i(t)$ を Δt で分割して得られる時点 t_0, $t_0+\Delta t$, $t_0+2\Delta t$, ..., $t_0+n\Delta t$ に対する標本列 X_0, X_1, X_2, ..., X_n を取ることになる。Shannon の標本化定理によれば，時間函数 $f(t)$ のスペクトルが，0 c/sec から W c/sec までとすると

$$f(t)=\sum_{k=-\infty}^{\infty} X_k \frac{\sin\pi(2Wt-k)}{\pi(2Wt-k)} \qquad \text{但し} \quad X_k=f\left(\frac{k}{2\pi}\right) \tag{3}$$

$f(t)$ は $\frac{1}{2W}$ 秒毎に振巾値を取ると完全に決定される。即ち周波数帯域巾が限定されている時間函数に対しては標本点だけを考えればよい。函数 $f(t)$ が時間 T に定されていると，この区間内の標本 [illegible] W, [illegible] T [illegible] 関数 $f(t)$ については $2WT$ [illegible] $2WT$ [illegible] 個の標本点の値を与えると充分正確に決定される。

2) 線型振動系としての船の海洋波による動揺応答[7)8)9)]

[illegible] $k(t)$, [illegible] $\phi(j\omega)$ [illegible] フーリエ変換の関係 [illegible] にある。

$$k(t)=\frac{1}{2\pi}\int_{-\infty}^{\infty}\phi(j\omega)e^{j\omega\tau}d\tau, \qquad \phi(j\omega)=\int_{-\infty}^{\infty}k(t)e^{-j\omega\tau}d\tau \tag{4}$$

[illegible] $m(t)$ [illegible] $R_m(\tau)$ 及びスペクトル密度 $S_m(\omega)$ [illegible] $x(t)$ [illegible] となる。

$$x(t)=\frac{1}{2\pi}\int_{-\infty}^{\infty}m(t-\lambda)\;k(t)\,d\lambda \tag{5}$$

この動揺の応答 $x(t)$ の自己相関係数 $R_x(t)$, スペクトル密度 $S_x(m)$ とすると

$$R_x(\tau)=\lim_{T\to\infty}\frac{1}{2T}\int_{-T}^{T}x(t+\tau)\cdot x(t)\,d\tau \tag{6}$$

(5) 式を (6) 式に代入して計算すると

$$R_x(\tau)=\int_{-\infty}^{\infty}d\lambda\int_{-\infty}^{\infty}k(\eta)\,k(\lambda)\;R_m(\tau+\lambda-\eta)\,d\eta \tag{7}$$

この式は海洋波の函数 $m(t)$ と船の動揺応答 $x(t)$ との自己相関係数の関係を示している。これらの自己相関係数とスペクトル密度との関係はフーリエ変換の関係にある。

$$S_x(\omega)=\int_{-\infty}^{\infty}R_x(\tau)e^{-j\omega\tau}d\tau, \qquad S_m(\omega)=\int_{-\infty}^{\infty}R_m(\tau)e^{-j\omega\tau}d\tau \tag{8}$$

よってこれらの関係から次式が導かれる。

$$S_x(\omega)=|\phi(j\omega)|^2\cdot S_m(\omega) \tag{9}$$

次に，海洋波 $m(t)$ と船の動揺応答 $x(t)$ との相互相関係数 $R_{xm}(\tau)$ は次式で表わされる。

$$R_{xm}(\tau)=\lim_{T\to\infty}\frac{1}{2T}\int_{-T}^{T}m(t-\tau)\cdot x(t)\,d\tau \tag{10}$$

(5) 式を (10) 式に代入して計算すると

$$R_{xm}(\tau)=\int_{-\infty}^{\infty}R_m(\tau-\lambda)\cdot k(\lambda)\,d\lambda \tag{11}$$

今，海洋波 $m(t)$ が所謂白い雑音とすると

$$R_m(\tau) = \delta(\tau) \qquad \text{但し} \quad \delta(\tau) = \text{デルタ函数}$$

よって，(11) 式から

$$R_{xm}(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} \delta(\tau - \lambda)\, k(\lambda)\, d\lambda = k(\tau) \tag{12}$$

従って (4) 式の関係から

$$\phi(j\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} R_{xm}(\tau) e^{-j\omega\lambda} d\lambda \tag{13}$$

以上の様に，動揺応答を求める上にフーリエ変換の演算が必要である。Akcasu A. Z.[10] によれば，$X_i = f_i(t)$ から直接フーリエ解析してパワースペクトラムを求めても同じ結果が得られる。

3 スペクトラム解析機

海洋波の中の船の動揺を解析する目的で，スペクトラム解析機として，T. B. Whiteley 等の Photo-mechanical wave analyser [9]、東大地震研究所の波形分析機と同一方式によるアナログ型電算機を設計した。この解析機の全景は Photo. 1 に示され，その作動原理図は Fig. 1 に示される。原理図から分る様に、1) 函数及びサーボ信号発生装置、2) フーリエ演算回路，3) サーボ機構，4) 演算出力の記録 (スペクトラム) の各部から構成されている。

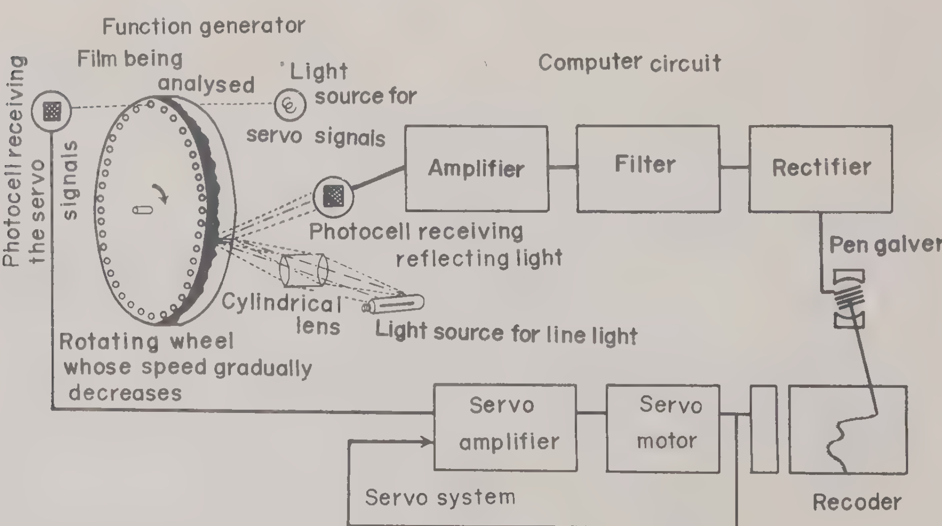


Fig. 1. Diagram illustrating the principles of the analyser

Function generator, Film being analysed, Light source, Photocell receiving the servo signals, Photocell receiving reflected light, Rotating wheel whose speed gradually decrease, Cylindrical lens, Light source for line light, Computer circuit, Amplifier, Filter, Rectifier, Pen galver, Recorder, Servo system, Servo motor, Servo amplifier

（1） 函数及びサーボ信号の発生

解析するために，観測によって得られた動揺記録又はその標本列に従って 35 mm フィルムの上に函数 $f_i(t)$ を白黒に再現する，この方法としては次の二つの方法を適宜に使用した。

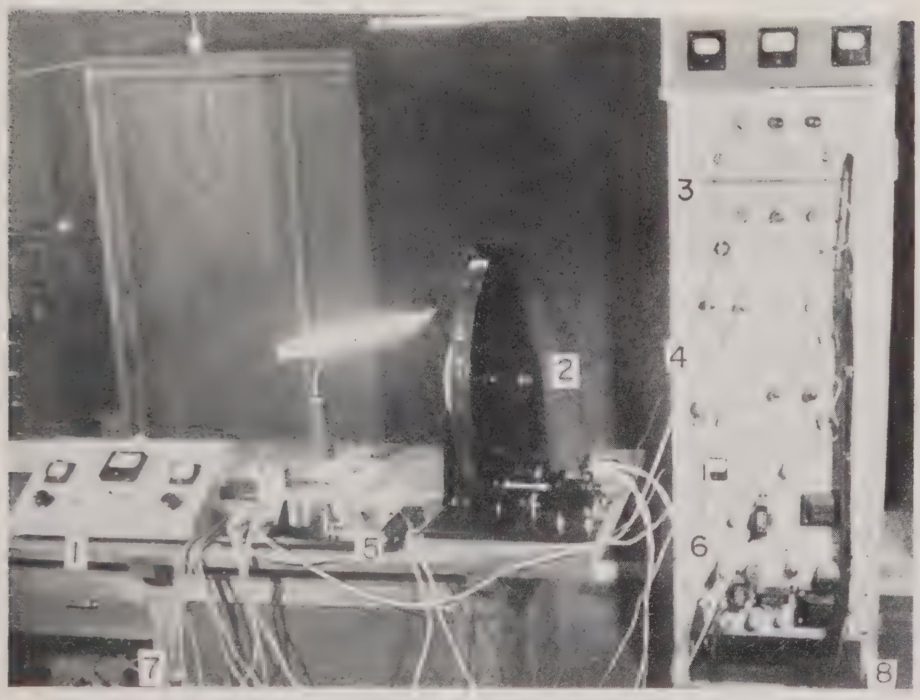


Photo. 1. View of the entire instrument

1. Control panel　2. Function generator　3. Tuned amplifier detecter
4. Servo amplifier　5. Recorder　6. Power supply　7. Battery supply

a) 函数 $f_i(t)$ をトレーシンググラフ紙上に画き，曲線の片側を黒くする。 この場合最大振巾を 10 mm とし， 時間軸については， サンプリングの時間区隔及び演算回路のフィルターの値により決まる。これを 35 mm フィルムの上に合わせてガラスで押え露光する。

b) Photo. 2 に示す変換器を用いる方法で 主に連続記録から直接解析用フィルムを得る場合に使用する。記録紙上の変動の振巾及び時間軸は 5：1 の比でフィルム上に再現される。



Photo. 2. Apparatus for making the film for analysis from observed data

1. Source of line light
2. Motor and gear
3. Observed record
4. Film magazine
5. Film to be analysed
6. Stylus

函数の発生

解析用のフィルムを直径 540 mm の回転ドラムの外側に取り付け円輪として閉じる。このフィルムの長さは 159.6 cm である。ドラムの外側はクロム鍍金し鏡面としてあるので，フィルムに線光源からの光を振幅の方向に当てること，フィルム面上の白即ち透明な部分の長さの光が反射されて Photo-cell に入る。よって，回転ドラムの駆動によりフィルム上の函数は電気的変動に変換されて再現できる。線光源は，長さ約 35 mm の単一フイラメントの白熱電球と，反射鏡，シリンドリカルレンズ及びスリットによって形成される。電源には直流 6 V フィルム上の線状光線の幅の調整はスリットによって行い，解析せんとする波の長さの $\frac{1}{10}$ 以下とした。次に，回転ドラムを最大回転数になるまで電動機により駆動し，これより空気抵抗によって減速させると，一つのフィルター回路を用いることによって適当な周波数範囲のスペクトラムを得ることが出来る。この場合，周波数範囲は解析用フィルムの上の波の長さの範囲に対応する。この解析機では，回転ドラムの最大速度は 360RPM である。

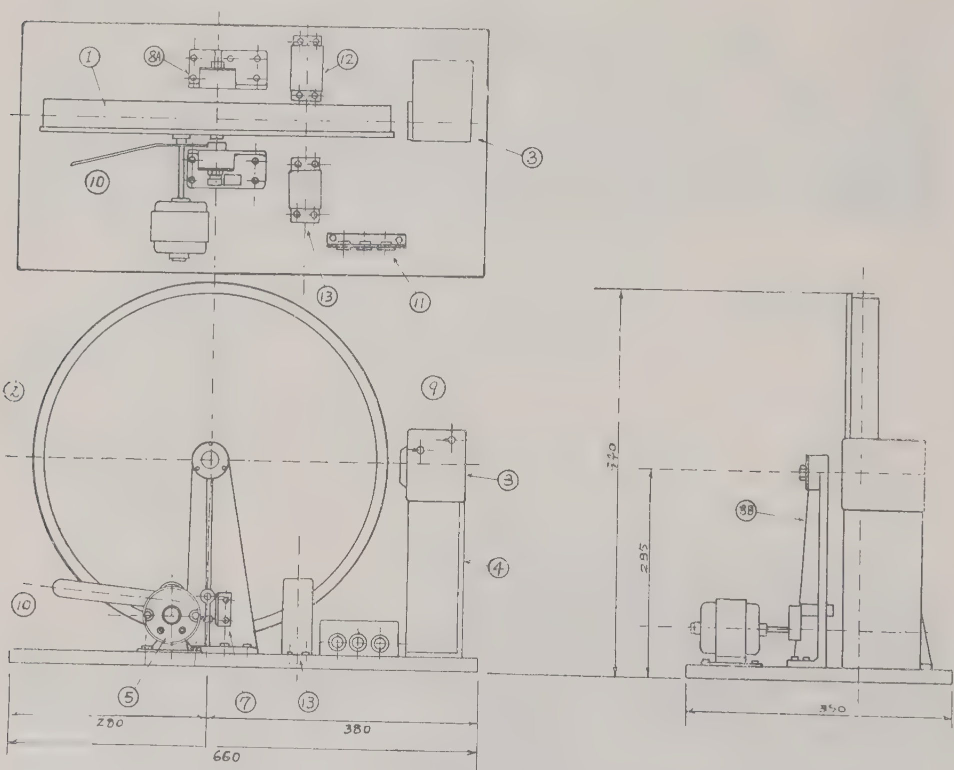


Fig. 2. Diagram of the mechanical part of the function and signal generator
1. Chrome plating, 2. Rotating wheel, 3. Photoelectrical pick up, 4. Bracket, 5. Motor to drive the rotating wheel, 7. Micro swich for driving motor, 8. Bracket for the rotating wheel, 10. Motor driving lever, 11. Plugs, 12. Lamp for the servo signal, 13. Photo-cell for the servo signal

サーボ信号の発生

演算したスペクトラムの記録するために，演算される各フーリエ成分の周波数に対応して記録ドラムを回転する。周波数の変化は，回転ドラムの減速による。従って，この減速量によって記録ドラムの回転を制御する。このためにサーボ機構を用いた。これは，Photo. 3 に示す様に，回転ドラムに 40 個の穴をあけ，光電系によって減速量をパルスの変化量として検出する。

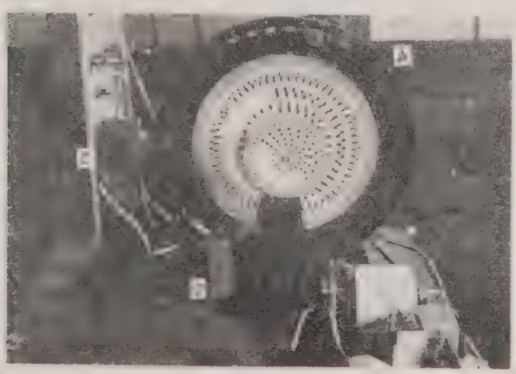


Photo. 3.　Mechanical part of the function generator

A.　Rotating wheel
B.　Strobo image for speed counter
C.　Photoelectric pick-up
D.　Photoelectric pick-up

[illegible] Photo. 4 [illegible]ると，これに連結されたマイクロスイッチに[illegible]機が起動して回転ドラムが作動する。このドラムの側面に，光源 50 c/s に対する[illegible] 20 RPM 毎に，360 RPM から 20 RPM まで作られておって回転数を表示する。回転[illegible]置は Fig. 4 に示される。

Photo. 4.　Rotating wheel

a.　Rotating wheel
b.　Driving motor
c.　Lever for driving motor
d.　Photoelectric pick-up
e.　Light source for servo signal



(2) [illegible]

[illegible]電系によって電気的変動に変換された函数 $X_i=f_i(t)$ は，増幅されて中心周波数 f_0 の CR フィルター回路に入り，フーリエ成分が取出され，更に電力増幅回路を通って整流されペン書きオッシロに入る。上記の函数発生の機構と相俟って連続スペクトルが得られる。この場合に，フィルターの帯域[illegible]る。この点について Chang S. S. L., Whiteley T. B. 等によって論ぜられている。

この解析機については，$f_0=312$ c/s, $Q=32$ このフィルター特性を Fig. 5 に示す。

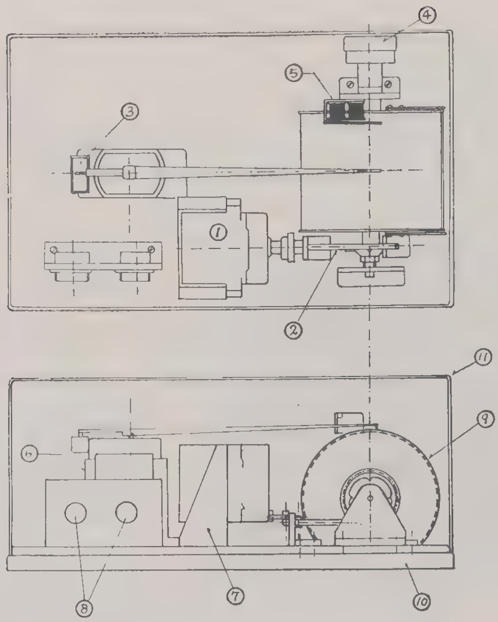


Fig. 3. Diagram of the recorder system

1. Balancing motor; geared down to 60 : 1 ratio 2. Gear, 50 : 1 ratio 3. Oil damper for pen galver 4. Variable resistance, 3 kΩ 5. Timer 6. Pen galver 7. Motor bracket 8. Recording drum 9. Steel case

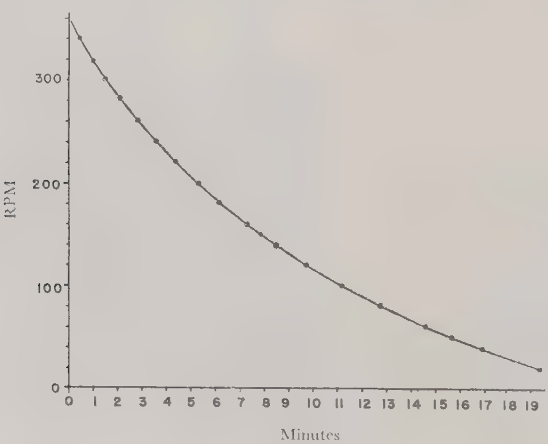


Fig. 4. Speed versus time for the rotating wheel

尚，この演算の意味については，函数 $f(t)$ をフーリエ級数で表わすと次式で与えられる。

$$f(t)=\sum_{n=1}^{n}\left\{a_n\cos\frac{2\pi n}{T}\cdot t+b_n\cdot\sin\frac{2\pi n}{T}\cdot t\right\}$$

但し $a_n=\dfrac{2}{T}\displaystyle\int_0^T f(t)\cos\frac{2\pi n}{T}\cdot t,\ \ b_n=\dfrac{2}{T}\displaystyle\int_0^T f(t)\sin\frac{2\pi n}{T}\cdot t$　　(14)

$[0<t<T]$

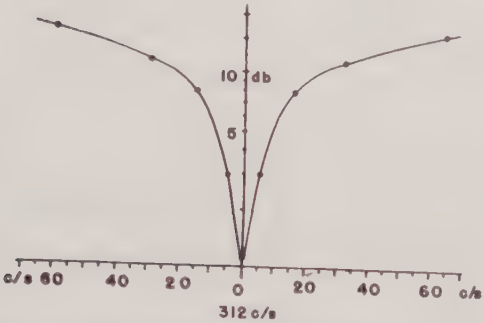


Fig. 5. Frequency characteristic of CR tuned circuit

$$c^2_n = a^2_n + b^2_n \tag{15}$$

とおくと，c^2_n は角周波数 $\omega_{n-\frac{1}{2}}=\dfrac{2\pi(n-\frac{1}{2})}{T}$ から $\omega_{n+\frac{1}{2}}=\dfrac{2\pi(n+\frac{1}{2})}{T}$ の周波数帯域幅に含まれる $f(t)$ のエネルギーに相当する。この解析機においては $\sqrt{a^2_n+b^2_n}$ を出力としてペン書きオッシロによって取り出している[illegible]

（3） スペクトラムの記[illegible]

[illegible]ン書きオッシロによって，記録ドラムの軸方向，Y 軸に $X_i=f_i(t)$ のフーリエ成分又は第 2 節の[illegible]算によるフーリエ成分を，ドラムの回転方向，X 軸に周波数又はこの逆数として解析用フィルム上[illegible]長さ（時隔）をとる。回転ドラムが 360 RPM から減衰して 20 RPM になる間に，記録ドラムは長[illegible] 1 mm [illegible] 30 mm [illegible]を走査しつつ一回転する。この間にストロボ像による回転数表示に従っ[illegible]記録紙上にマーカーによって標すると，Fig. 7 によって X 軸が較正される。

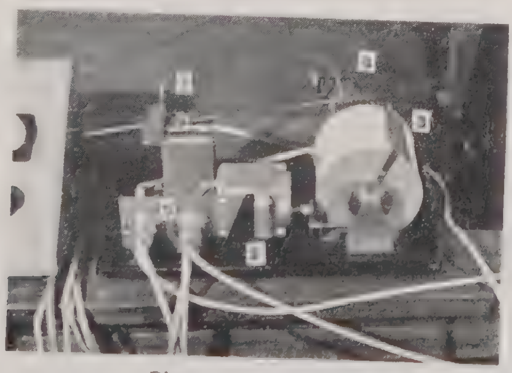


Photo. 5. Recorder

1. Pen galver　　2. Balancing motor
3. Recording drum　　4. Timer　　5. Plugs

Calibration

[illegible]船の動揺の様な Random Oscillation の場合，G. Neuman, W. J. Pierson 等による理論に従って沢山の正弦波の重量であると考えることが出来る。よってこの解析機についても，解析出来[illegible]り長さ，フィルターの f_0 値，回転ドラムの回転速度によって決まるの

でこの範囲 1 mm から 30 mm について基準となる正弦波の解析用フィルムを作り，演算してスペクトラムを求め X, Y 軸の目盛基準とした。

a) 解析用フィルムの上の波の長さ 8 mm から 28 mm まで，長さ 4 mm 毎に，その振幅 2 mm の正弦として解析用フィルムを作り，光源電圧を一定として求めたスペクトラムを Fig. 6-a に示す。これは，正弦波を時間函数として長さ 1 mm を 1 秒に対応させると，上記の正弦波は夫々周期 8 秒から 4 秒間隔にとった周期 28 秒の波に相当する。

Fig. 6-a は，この解析機の周波数特性を示すもので，この範囲では演算出力は殆んど変らないことを示している。このことから，正弦波の波長を一定としてその振幅を変えた場合のスペクトラムを求め Y 軸の目盛を得ることができる。即ち，波の長さ 20 mm の正弦波の振幅を，各々 0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm, 2.0 mm, とした場合のスペクトラと光源電圧との関係を求めて Fig. 6-b に示す。

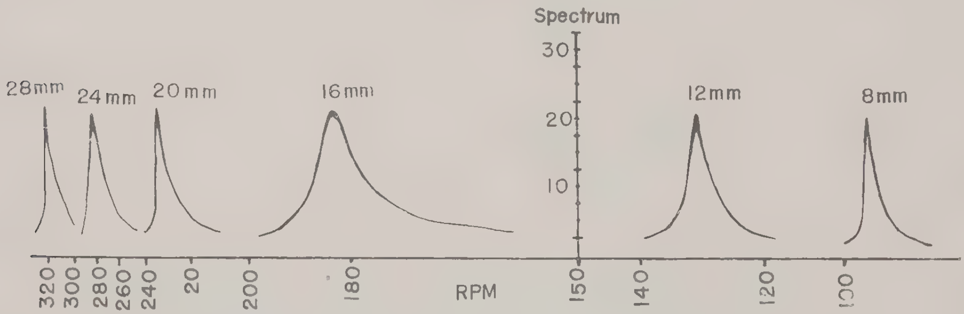


Fig. 6-a. Frequency characteristic of the analyser

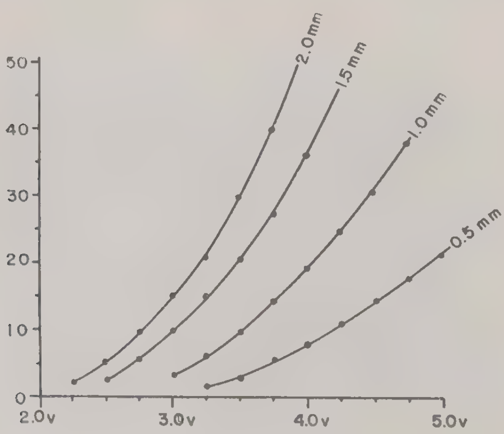


Fig. 6-b. Standard sine wave amplitude versus the voltage of battery supply for lamp

b) スペクトラムの X 軸は，周波数又は周期であるがこの解析機の操作上，解析用フィルムにおける波の長さとして表わされる。フィルムの全長，回転ドラムの回転速度範囲，フィルター中心周波数の値の関係から解析可能な波の周期又は周波数，或いは波の長さの範囲が決まるが，この場合は上記されている様に，1 mm から 30 mm の波の長さの範囲である。従って，波の長さ 4 mm から 2 mm 毎に 28 mm までの 13 個の正弦波について，振幅 1 mm として全部の波を合成しフィルム上に再現

してスペクトラムを求めると，各正弦波に対応する 13 個の離散したススペクトルが得られる。これを Fig. 7 に示す。スペクトラム上の回転ドラムの 20 RPM 毎の標に対して 13 個の点をとれば，波の長さの目盛となる。この波の長さ，1 mm を 1 秒に対応させると，13 個の点は，周期 4 秒から 28 秒までを意味する

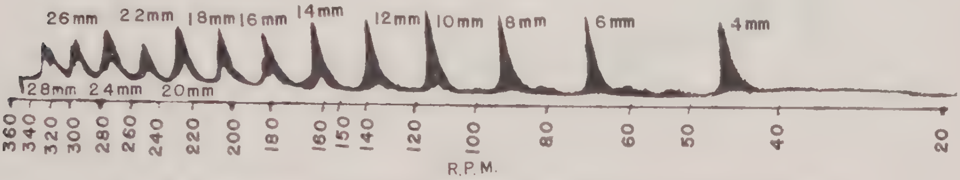


Fig. 7.　Revolutions per minute versus frequency (Length of waves)

4　波による船の横揺れについての演算

海洋波の中の船の横揺れ応答についての研究に関聯して，実験水槽の中で海洋波を再現し，船体模[illegible]を測定してスペクトラム解析を行った。Fig. 8 は，この実験における海洋波の波高，波傾斜及び船の横揺れ角の記録の一部分である。この記録から，3 節 (1) a の方法でフィルムを作り，この解析機で求めたスペクトラを Fig. 9 に示す。但し，波高は，1 cm を 1 mm に，波傾斜及び[illegible]は，1 度を 1 mm とし，2 mm を $\frac{1}{5}$ 秒としてフィルム上に再現した。

次に，同様に，Fig. 8 について $\frac{1}{5}$ 秒の時隔で振幅を読み取って，デイヂタル型自己相関係数計算機により，波傾斜と横揺れ角のコレログラム及び両者のクロスコレログラムを計算し Fig. 10 に示す。これらについてこの解析機によるフーリエ変換を Fig. 11 に示す。

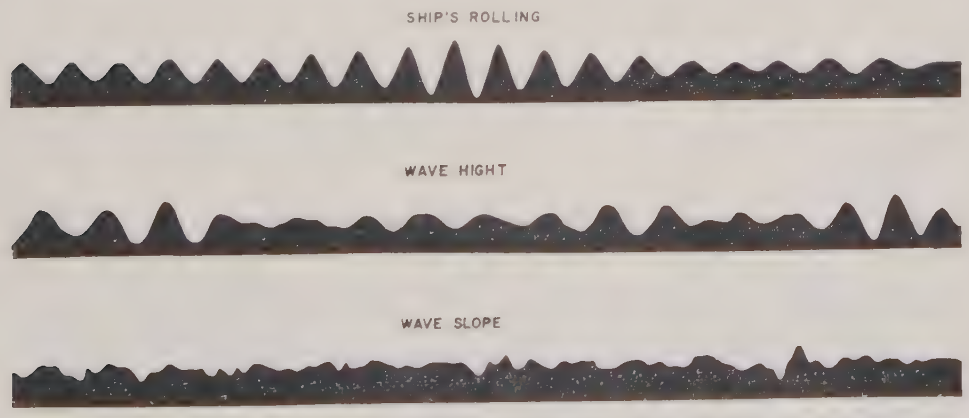


Fig. 8.　Sample record of the ship's oscillations, wave heights and slopes

5　解 析 機 の 精 度

[illegible]，計測記録から時間函数と[illegible]

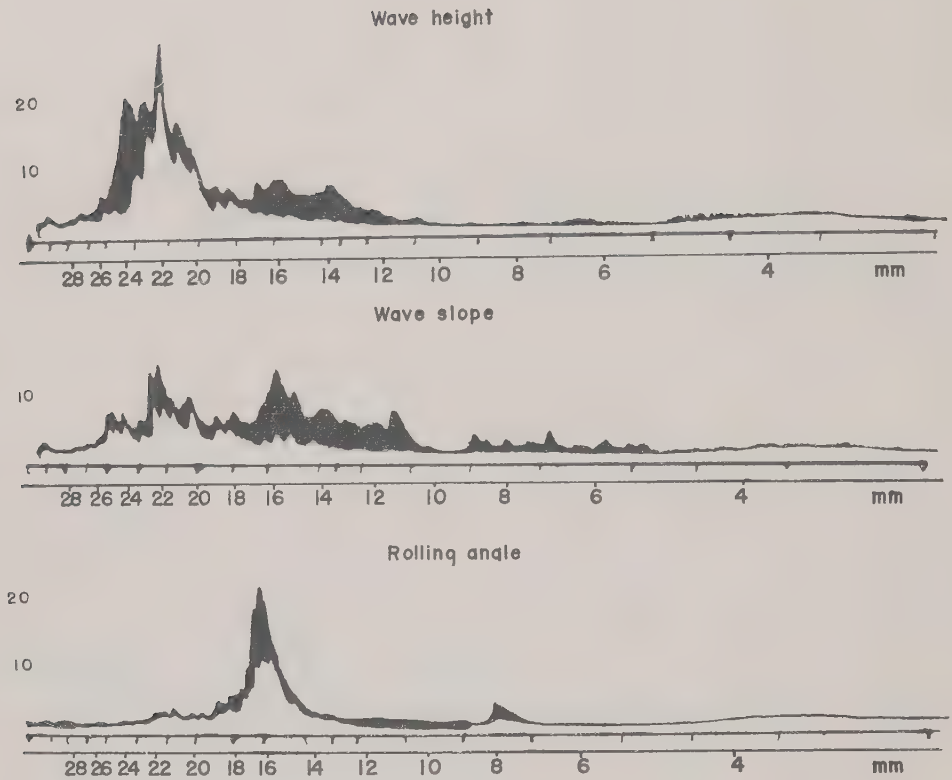


Fig. 9. Spectra for the ship's oscillations, wave heights and slopes

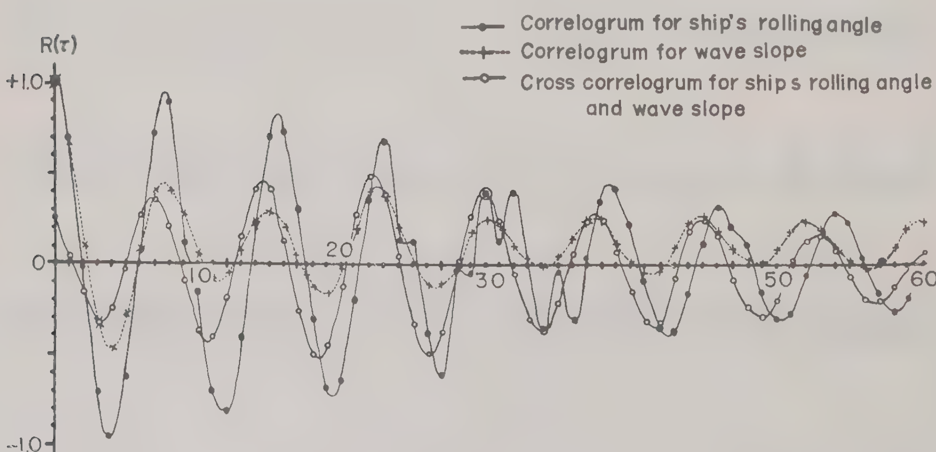


Fig. 10. Correlograms for the ship's oscillations and wave slopes, cross correlogram for the ship's oscillations and wave slopes

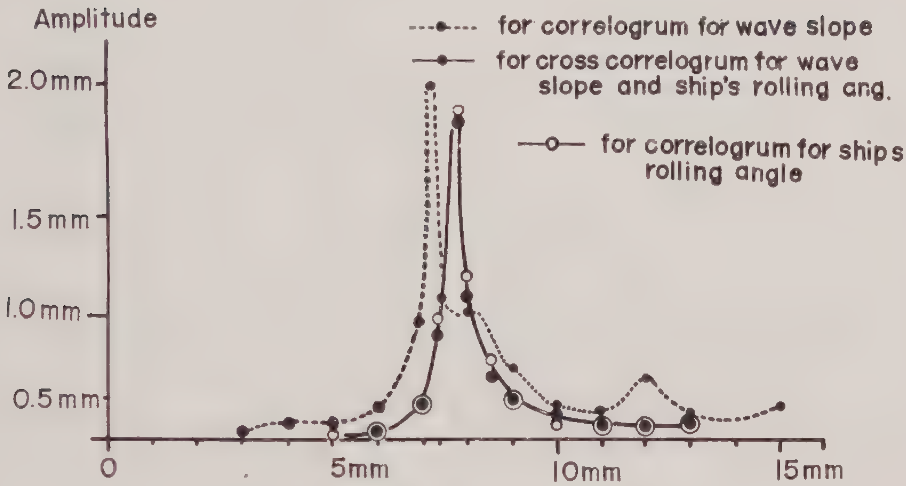


Fig. 11. Spectra calculated by the instrument from correlograms and cross correlogram

1) [illegible]フィルム上に[illegible]を白黒に再現する場合

2) [illegible]電系によって電気的変動に変換する場合

3) [illegible]

4) [illegible]電圧の変動オッシロ用ペンの磨擦その他

第1[illegible]多少の相違があるが，第1項から第3項までの綜合した誤差を推定するために，第3節に述べた基準正弦波について繰返しスペクトラム演算をした。

その結果，綜合的な誤差は 12% である。尚，記録の読み取り誤差等を 5% 以内とすると，

$$全誤差 < (12^2 + 5^2)^{\frac{1}{2}} = 13\%$$

となる。第 4 項については，[illegible]操作によって又は Calibration 用の基準波形のスペクトラム演算を繰返しすることによって，殆んど無視出来る。

6　結　　言

[illegible]誘起される船体運動は極めて複雑である。このために実船において計測される横揺れや縦揺れの振幅或いは角速度の時間函数から操船のための意義[illegible]現在の段階においては，この解析機は，データ処理の[illegible]

[illegible]研究所高橋教授の御指導並びに同研究所員相田氏の御助[illegible]電気的部分は[illegible]社の御協力を得た

尚，この解析機は，文部省科学研究交付金により[illegible]

文　　献

1) Barber, N. F., Ursell, F., Darbyshire, J. & Tucker, M. J. (1946). A frequency analyser

used in the study of ocean waves. *Nature* 158, 329-332.

2) Whiteley, T. B. & Alledredge, L. R. (1952). A photomechanical wave analyser for Fourier analysis of transient wave forms. *Jour. Sci. Inst.* 29 (II), 358-362.

3) 降旗常雄 (1956). 新しい自動データ処理機械 MERIAC-1-F について. 気象と統計 10 (1), 23-31.

4) Bledsoe, B. & Cummins, W. E. (1960) Seakeeping trial on three Dutch destroyer. *Trans. Inst. Nav. Arch. Mar. Eng.* 68, 39-137.

5) 関 英男 (1955). 情報理論 岩波講座. 現代物理学. 59 p. 東京; 岩波書店.

6) 喜安善市他 (1957). 情報理論 岩波講座. 現代応用数学. 111 p. 東京; 岩波書店.

7) 山内保文 (1961). 船の波浪中の動揺応答の解析法について (その 1). 日本造船協会論文集 (109), 377-391.

8) 宮脇一男 (1961). 雑音解析. 221 p. 東京; 朝倉書店.

9) Thomas, J. B. (1960). *Introduction to the statistical dynamics of autmatic control systems by V. V. Solodovnikov.* 307 p. New York; Dover Pub. INC.

10) Akcasu, A. Z. (1961). Measurement of noise power spectra by Fourier analysis. *Jour. App. Phy.* 32 (4), 565-568.

11) Chang, S. S. L. (1954). On the filter problem of the power-spectrum analyser. *Pro. Inst. Rad. Eng. N. Y.* 42 (8), 1278-1282.

海中不連続からの超音波反射について

第1報　海中小反射物群からの超音波反射の近似的取扱いについて

石田正己・佐野典達
(北海道大学水産学部測器学教室)

On Reflection of Ultrasound from Discontinuous Boundaries in the Sea

I. Approximate treatment of ultrasound from the group of small reflecting bodies in the sea

Masami ISHIDA and Noritatsu SANO
Faculty of Fisheries, Hokkaido University

Abstract

Echoes of ultrasound have been recorded from acoustically discontinuous boundaries due to the group of small reflecting bodies (plankton, air bubbles, mud grains, etc), large boundary surfaces between two media with different acoustical impedances (sea water—sea bottom, temperature or salinity changes of two water masses, etc), and various finite marine lives.

In this paper (I) approximate equations for treatment of ultrasound reflection from the group of small reflecting bodies in the sea are described.

In the first step "target strength" or "reflection loss" of a small reflecting body is calculated and graphed assuming that the reflecting body is spherical and only longitudinal vibration may be excited in the reflecting body.

Next "reflection loss" of the group of such small reflecting bodies is calculated assuming that the resultant reflected sound pressure at the receiving point may be the vectorial sum of individual sound pressures reflected from individual bodies only once.

The measurements of "reflection loss" of the group of plankton, air bubbles are carried out in the experimental water tank, and the measured values are compared to the above calculated values with a considerable agreement.

1 緒　　　言

海中には，超音波の反射を生ずる不連続的境界が色々あるが，これらを反射の機構から便宜的に次のグループに分けて考察すれば好都合である。即ち

(1) 小反射物群からの反射

これは，プランクトン群，気泡群，海雪(マリン・スノー)群，其他の微小な懸垂物群で，散乱的反射を生ずる場合である。

(2) 特性音響インピーダンスの不連続に依る境界面の大きい場合の反射

これは海底，海面の反射，及び海水の温度差，塩分差等に基く異った水塊の境界面の反射のように，特性音響インピーダンスの不連続に原因する反射である。

(3) 有限大いさで任意形状の反射体からの反射

これは種々の海中動植物，其他の種々の標的からの反射で上記の (1) と (2) の中間領域の反射である。

本論文第1報では (1) の小反射物群からの散乱的反射を近似的にでも定量的に取扱う理論について述べ，その近似的理論式を用いて，海中で遭遇する機会の多いプランクトン群，気泡群，泥粒群，等について，反射物の反射強度を示す target strength (標的の強さ) 又は reflection loss (反射損失) を計算し，且これを acoustical radius ka に対して図示した。次いで，実験水槽内に於いて，プランクトン群，気泡群に対して，群構成数の変化に対する反射損失の変化を，使用周波数をパラメーターとして実測した。それらの実測結果を近似的理論値と比較して，反射体によっては近似的に使用できる可能性を示した。

2 海中小反射物群からの超音波反射量の近似的理論式

小反射物体からの散乱音場については，古くから Lord Rayleigh[1] が微小不動剛球，及び周囲の媒質と少しく密度，圧縮率，等の音響定数の異なる小反射物体について求めてあり，H. Stenzel[2] は，不動剛球の場合について更に acoustical radius ka の大きい領域 (ka<40) にまで拡張して求めている。又 C. Anderson[3] は横振動の影響を考慮しなくともよい流体球について，平面波音場に対する散乱音場を求めている。実際に海中で遭遇する微小反射体としては，気泡とか，又ある種のプランクトンのように，近似的に流体球と考えて励振される縦振動のみの影響を考えてよい場合と，ある

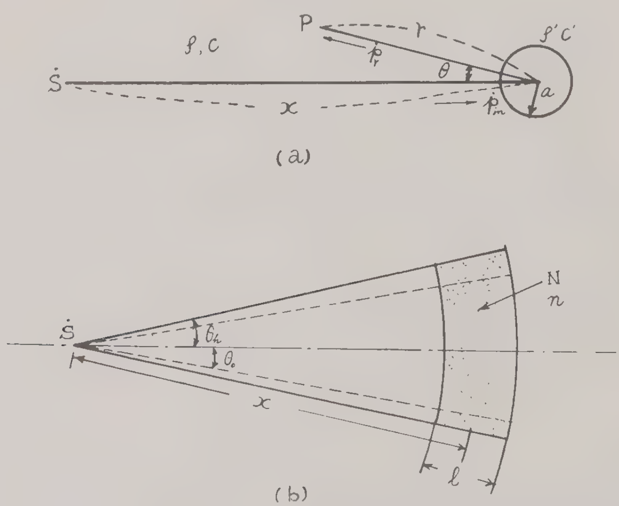


Fig. 1. Reflection of ultrasound from the group of small reflecting bodies in the sea

(a) Reflection of ultrasound from a single spherical reflecting body

(b) Reflection of ultrasound from the group of small reflecting bodies

種のプランクトンのように固い厚い甲殻を有するものとか，砂粒，泥粒等のように励振される縦振動と横振動の両者の影響を考えねばならぬ場合とある。今玆では，数式を簡単化するために，近似的に反射体が微小球体であって，且，縦振動のみ励振されるものと考えた散乱的反射の場合について，取扱うことにする。又その反射量を定量化して表示するためには，SONAR 技術に用いられる target strength，即ち反射体に入射する入射音場の強さに対する反射体から特定方向に（普通は $\theta=0°$ 即ち backward に）単位距離（普通は 1 meter）に生ずる散乱音場の強さの比のデシベル数を用いるがこれは橋本[8]の用いた反射損失 β_1 と数値的には同一のものである。このような定義量を用いて，反射体の反射能力を比較する尺度とし，任意の音響定数を有する微小球状反射体の target strength 又は反射損失を一般の球面波音場の場合について求めるものとする。今第1図(a)に於いて，音源の強さ $\dot{S}$ なる球面波音源を考え，音源より距離 x なる位置に半径 a なる微小球状反射体があり，その中心から入射方向との角度 θ なる方向で，十分遠い距離 r なる点 P における反射音圧 $\dot{p}_r$ は，平面波が入射した場合の Anderson の結果がそのまま使用出来るものと仮定すると

$$\dot{p}_r=|\dot{p}_{in}|\left(\frac{1}{kr}\right)\exp(ikct-ikr)\times\sum_{m=0}^{\infty}P_m(\mu)(-1)^m(2m+1)/(1+iC_m)\quad\text{........(1)}$$

の形に書くことが出来る。但し $|\dot{p}_{in}|$ は入射音圧 $\dot{p}_{in}$ の振幅であって，今は球面波を考えているから，次式で与えられる筈である。

$$\dot{p}_{in}=i\rho\omega(\dot{S}/4\pi x)\exp(ikct-ikx)\quad\text{..............................(2)}$$

又 $P_m(\mu)$ は $\mu=\cos\theta$ に関するルジャンドル函数であり，目下の backward の方向 $\theta=0°$ に対しては 1 である。又 (1) 式中の C_m は次の式を表わすものである。

$$C_m=\frac{[\alpha_m(k'a)/\alpha_m(ka)]\,[n_m(ka)/j_m(k'a)]-[\beta_m(ka)/\alpha_m(ka)]\,gh}{[\alpha_m(k'a)/\alpha_m(ka)]\,[j_m(ka)/j_m(k'a)]-gh}$$

この式中の記号は次の意味を有する。

$\alpha_m(ka)=(2m+1)\,\partial[j_m(ka)]/\partial(ka)=m\,j_{m-1}(ka)-(m+1)j_{m+1}(ka)$

$\beta_m(ka)=(2m+1)\,\partial[n_m(ka)]/\partial(ka)=m\,n_{m-1}(ka)-(m+1)n_{m+1}(ka)$

j_m：球状ベッセル函数。

n_m：球状ノイマン函数。

g：$g=\rho'/\rho$　相対密度。

h：$h=c'/c$　相対音速。

ρ, ρ' 及び c, c' は夫々媒質，反射体の密度と音速である。

k, k' は媒質，反射体内の位相定数である。

目下の微小球体である条件 $ka\to 0$ 及び $x>\lambda$, $r>\lambda$ という条件を用い，j_m と n_m に対する級数中第一項のみを近似的にとって考えると，(1) 式より次の反射量表示が得られる。

$$|\dot{\gamma}_r|=\frac{\dot{p}_r}{\dot{p}_{in}}=\frac{a}{2r}\cdot 2(ka)^2|(1-gh^2)/(3gh^2)+(1-g)/(1+2g)|\quad\text{..................(3)}$$

特に $r=1$ meter とすれば

$$|\dot{\gamma}_1|=\frac{a}{2\times10^2}\cdot 2(ka)^2|(1-gh^2)/(3gh^2)+(1-g)/(1+2g)|\quad\text{......................(4)}$$

となる。橋本[8]の用いた反射損失は

$$\beta_1=20\log_{10}\frac{1}{|\dot{\gamma}_1|}\qquad\text{(db)}$$

であり，traget strength は

$$T_s = 10\log_{10}\frac{|\dot{p}_r|^2}{|\dot{p}_{in}|^2} = 10\log_{10}|\dot{\gamma}_1|^2 \qquad \text{(db)}$$

である。

今 (4) 式をもって，微小球状反射体の反射量を近似的に示す近似理論式として，とり上げてみた。(4) 式の意味する所は，いわゆる Rayleigh の散乱法則に相当して，反射率 (入射音圧 $\dot{p}_{in}$ に対する反射音圧 $\dot{p}_{r1}$ の比) は反射体の容積に比例し波長の 2 乗に反比例し，反射体の周囲媒質に対する相対密度 g 及び相対音速 h に関係することが分る。又 (4) 式の適用出来る領域の上限は (4) 式中の $2(ka)^2|(1-gh^2)/(3gh^2)+(1-g)/(1+2g)|<1$ できまる ka の値であって具体的には，反射体の g と h の大いさに対して決定してくることになるのである。第2図には海中で遭遇する機会の多い諸物質，

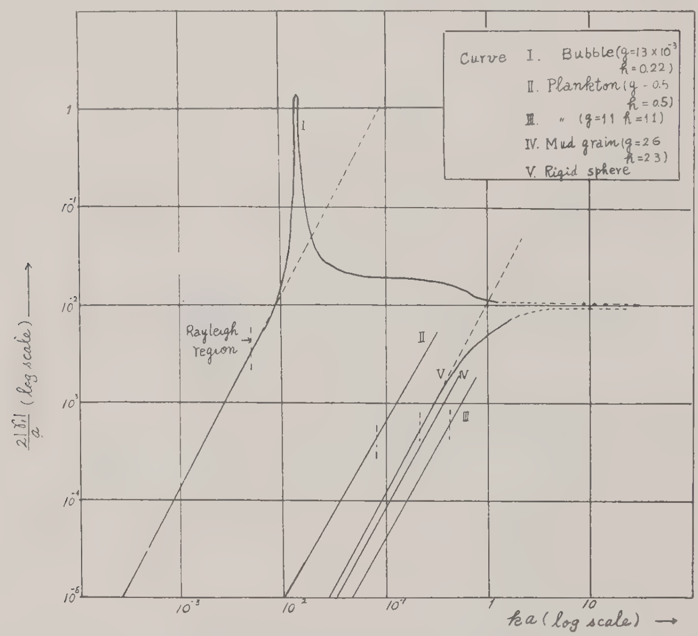


Fig. 2. Diagrams of reflecting quantity $2|\dot{\gamma}_1|/a$ versus acoustical radius ka for the various reflecting bodies

即ち気泡，プランクトン，及び泥粒等に対して (4) 式によって反射量 $2|\dot{\gamma}_1|/a$ を図示したものである。又いわゆる Rayleigh の散乱法則の成立すると考えられる領域を点線で附記した。これ以上の領域は，いわゆる共振領域であって，(1) 式の級数の項数を増加して考えねばならぬから解は複雑になる。 気泡では第一項が大きいから近似的に第一項のみをとって共振附近の ka に対しても求めてある。周知のように，気泡の共振は第一共振は $ka=0.014$ の時起り，気泡が零次の半径方向の振動姿体を行うものと仮定して $|\dot{\gamma}_1| = \dfrac{1}{2\times10^2}\cdot\dfrac{\lambda}{\pi}$ [4] という極大値が得られる。

一般には，(4) 式の示す通り，振動性物質においては，体積弾性率の変化に基く容積変化による擾乱音場と，密度差に基く変位による擾乱音場とは，g および h の組合せによっては，音場は相殺され合うことを示しており，第 3 図には，$|\dot{\gamma}_1|=0$ となる g と h の組合せを計算して図示しておいた。

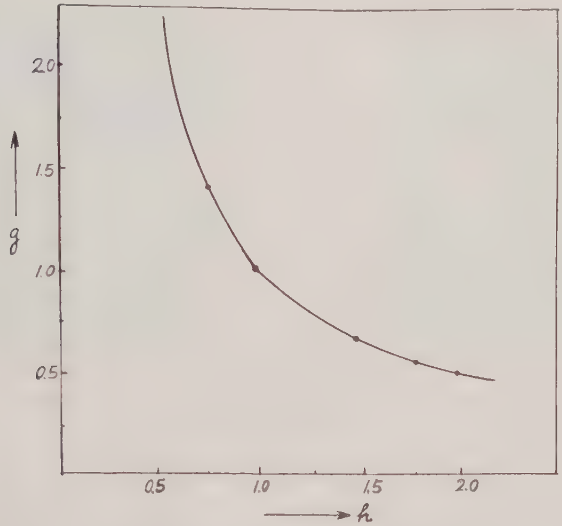


Fig. 3. The g-h curve for $|\dot{\gamma}_1|=0$

即ち

$$g=\frac{(1+h^2)\pm\sqrt{(1+h)^2+5h^2}}{5h^2} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(5)$$

の関係を満足する g と h の組合せは反射の弱いことを示している。

以上は小反射体が単体としての反射能力を表わす量を近似理論として取扱った。次にこのような微[illegible]示を用いて，同様に考えることにする。即ち送受波器の有効指向角を θ_0，群と音源の距離を x，群[illegible] N は，第 1 図 (b) に於いて

$$N=\pi(x\tan\theta_0)^2\, l\, n\simeq\pi x^2\theta_0^2\, l\, n \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(6)$$

である。ここに

n： 単位容積中の数

l： パルス幅の $\frac{1}{2}$ を媒質内の長さに換算したもの

従って群からの反射量は，個々の反射音圧のベクトル和になるから，

$$|\dot{\gamma}_N|=|\dot{\gamma}_r|\times\sqrt{N} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(7)$$

故に群からの反射損失は

$$\begin{aligned}\beta_N&=\beta_1+20\log_{10}\frac{x}{10^2}+20\log_{10}\frac{1}{\sqrt{N}}\\&=\beta_1+20\log_{10}\frac{x}{10^2}+20\log_{10}\frac{1}{x\,\theta_0\sqrt{\pi\, l\, n}}\end{aligned} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots(8)$$

として求められることになる。但し (7), (8) 式を求めるに当って，群の個体からの反射音圧は各々からは，只一回づつ反射したものが合成されるものとみなしていることは，注意すべき重大な点であって，多重散乱性の反射体が分布密度大きく存在する時は，特に適用について考慮を要することになる。尚第 3 図に附記した g と h の値は，気泡に対しては標準状態の空気の値，泥粒に対しては，一

般粘上の定数を，プランクトンに対しては，一部は実測値を，他は推定値を使用している。又参考のために，単独剛球，即ち $g=\infty$, $h=\infty$ の場合も附記しておいた。以上の如く，海中小反射体の単体及び群体の反射損失の近似理論式を一般的に示した。

3 水槽実験に就いて

3-1) 実験装置と方法

実験水槽としては，断面 50 cm×50 cm の長さ 13 meter の木製水槽を製作し，第 4 図の如く水

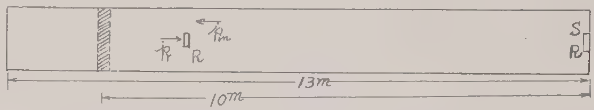


Fig. 4. Experimental water tank used in measuring the reflection loss of plankton and air bubbles

槽の一端に送波器 (S) と受波器 (R) を設置し，送波器から 10 meter の位置に被測定物を分布させて，反射損失を測定するのであるが，分布方法については，後述のように，被測定物の種類に応じて，後述するように工夫した。反射損失の測定法としては，橋本の置換法[8)9)] を用いた。これは迅速な測定に適しているからであるが，標準反射体としては 10 cm 径のガラス玉を用い，これを被測定物の位置に置いて同一測定装置（第 5 図）の同一働作条件で測定したマージンと被測定物のマージン

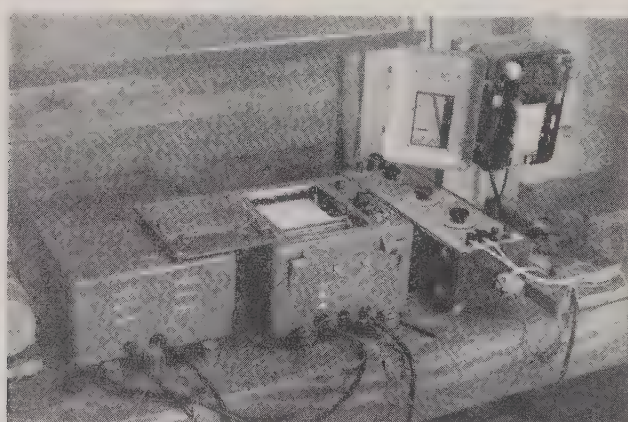


Fig. 5. Measuring apparatus used in measuring reflection loss

とを比較して，求める被測定物の反射損失を知る方法である。当研究室にあった 10 cm 径のガラス玉を較正のため，sliding method[11)] で別に反射損失を測定した所，31 db を得たが，10 cm 径のガラス玉の理論的反射損失 $\beta_1=32$ db と殆ど差がないので標準として使用した。用いた周波数は 50 kc と 200 kc であるが，50 kc は NA 型磁歪送受波器で，共に 6 cm×3.8 cm の幅射面を有する。200 kc はチタン酸バリウム電歪送受波器で共に径 7.6 cm の円形幅射面を有する。尚 50 kc 及 200 kc 送波器のパルス幅は，第 6 図及び第 7 図のブラウン管上の測定によって夫々 1.12 meter 及 2.25 meter 程度であった。

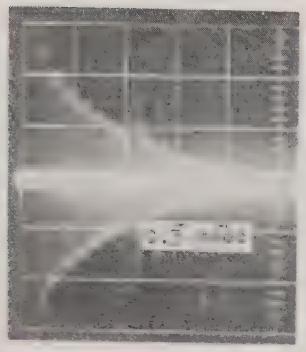


Fig. 6. Pulse width of 50 kc ultrasound

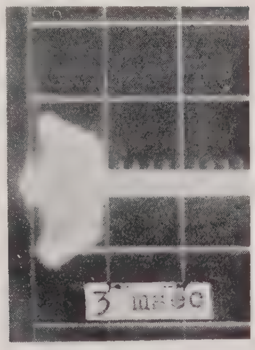


Fig. 7. Pulse width of 200 kc ultrasound

3-2) プランクトン群の反射損失の測定

A) 測定用プランクトン

水槽実験に用いたプランクトンは Calanus plumchrus (第8図) でうすい甲殻を有する。体長 2 mm のなるべくそろったものを試料として用いた。このプランクトンの g と h の値であるが，h は，目下の所，実験的に求めるのに困難であるが，g は次の如く実測してみた。体長 2 mm のもの 100 尾



Fig. 8. Plankton (calanus plumchrus 2-3 mm in length) used in measuring the reflection loss

(a) Lateral view　(b) Dorsal view　(c) Bentral view

を試料として用意し濾紙上で体表面の水分は除去しておく。100 尾一緒にして，0.1 mg まで計量できるスプリングバランスで質量を測定し，又 0.1 cc まで計量出来るメスシリンダーで体積を測定し，一尾の平均の密度として略 1.1 gr/cm³ を得た。従って g としては $g \simeq 1.1$ をとることにした。体積の測定が小数点以下二桁目が不正確であるから，g も小数点以下一桁目は信頼度はうすい。然しこのプランクトンを水に沈下させると自然の状態で沈下していくから $g \simeq 1.1$ という値は，近似的に使用できる値とみてよいだろう。プランクトンの形状は長軸を廻転軸とした廻転楕円体に近く，厳密には球体でないが，上記の体積の実測によって，体長に等しい 2 mm を径とする球体と考えた体積に比べて，実体積はその $\frac{1}{2}$ に近い。h としては，体表面の甲殻と内部の体組織を考慮に入れて $h \simeq 1.1$ と仮定してみた。第 2 図の曲線 III はこの種のプランクトンを想定して，(4) 式によって acoustical radius ka に対して $\frac{2|\dot{\gamma}_1|}{a}$ を画いたもので，今 (4) で 50 kc に於いては，$a=0.1$ cm，$g \simeq 1.1$，$ka \simeq 0.21$ として $|\dot{\gamma}_1| \simeq 5 \times 10^{-6}$ 程度で，これより β_1 としては $\beta_1 \simeq 106$ db が一応の推定値となる訳である。

B) プランクトン群の反射損失の測定

プランクトン群の構成数 N は，実際の反射損失の測定には，かなり多くを用いねばならぬが，尾数を計数するのは繁雑困難なので，メスシリンダーに入れて群の容積を測り，数の代りに容積をもって代行させた。1 cm³ 内に平均して略 100 尾程度入っているので，近似的には容積と数の関係も分る。測定すべき群は，容積を測って，一度に沈下させるべき量を組分けしておく。プランクトンは体表面が乾燥していると，水中に入れた場合，気泡が附着し易いから，前以って適当に水分で湿らせておく。水槽の幅方向に板を渡しこの上に，容積を測った，一度に沈下させるべき群をならべ，幅方向に分布する様に平均化し，プランクトンの沈下速度と見合って，群を除々に水中に静かに入れていき，丁度水槽断面に群が広がった時を見て，[第 9 図 (b)] 手早くマージンを測定し，置換法によっ

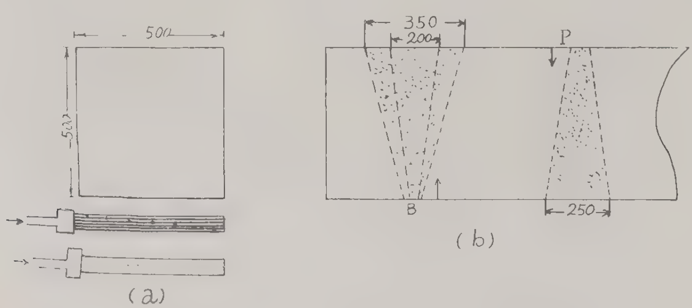


Fig. 9. Experimental water tank equipments
(a) Air bubble generator
(b) Distribution of air bubbles and plankton

て反射損失を求めた。50 kc 及び 200 kc に対して，プランクトンの総数 N を変化して反射損失を測定したものが，第 10 図の点線で結んだ実測値である。第 11 図は，プランクトンの沈下中の分布の状態を水中カメラで撮影したものであり，第 12 図 (a) (b) は夫々 50 kc 及 200 kc に対するマージン測定時の例である。第 10 図に見るように，50 kc の場合は，実測値は比較的よく $\sqrt{N}$ に反比例する傾斜にのるように求められたが，200 kc の場合は，測定値の変動が大きく $\sqrt{N}$ に反比例する

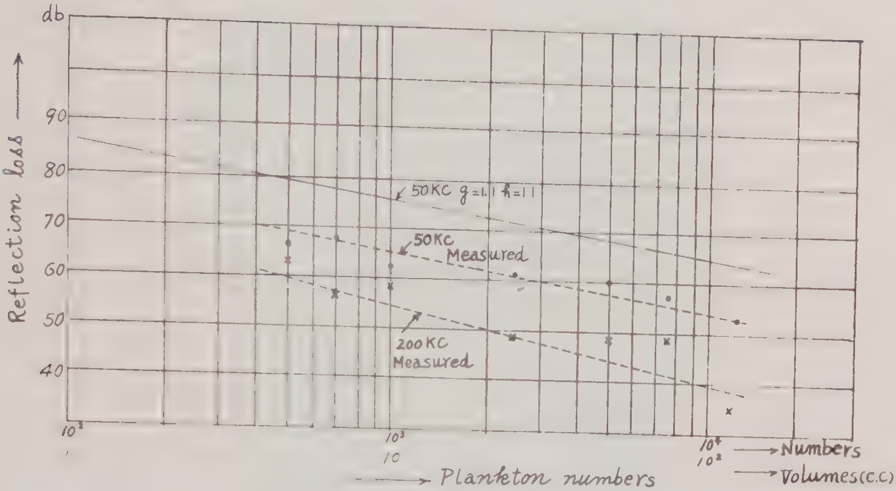
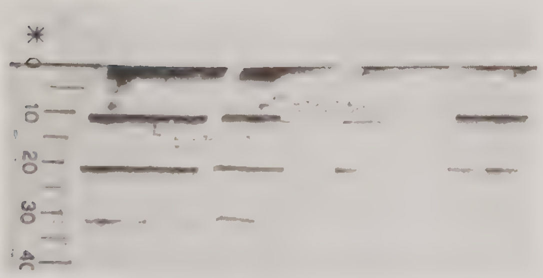


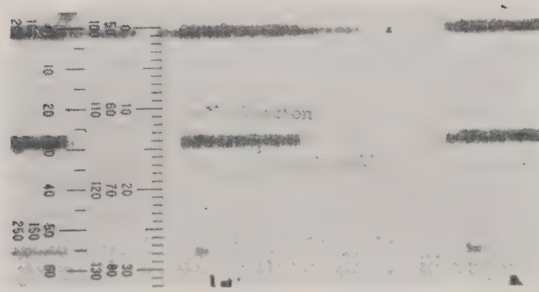
Fig. 10. Diagrams of reflection loss versus numbers of plankton N



Fig. 11. Distribution of plankton in the water tank



(a)



(b)

Fig. 12. Echograms of reflection from plankton
(a) To 50 kc ultrasound　　(b) To 200 kc ultrasound

傾向は，この実験では，はっきりとは認められなかった。又第 10 図の実線は $h\simeq 1.1$, $g\simeq 1.1$ の場合，50 kc に対する推定値線であるが，このような水槽実験では，(8) 式の群からの反射損失値は，第二項の距離による波面拡大による損失は考慮しなくともよいから (8) 式は

$$\beta_N=\beta_1+20\log_{10}\frac{1}{\sqrt{N}}=\beta_1+20\log_{10}\frac{1}{\sqrt{Al'm}}\quad\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(9)$$

と見ることが出来よう。但し (9) 式で A は水槽断面積，l' はプランクトン群の分布幅で実験では約 20 cm で，パルス幅より小さい。n は平均分布密度，N はプランクトン総数である。

推定値と実測値の比較については，4 の考察の項で触れる。

3-3) 気泡群の反射損失の測定

A) 気泡群の発生方法

種々の大いさの気泡特に微細な気泡を自由に発生させることは技術的に困難であり,[4)5)] ここでは比較的大きい気泡を発生させて取扱った。気泡を小分布密度で発生させるには半径 3 mm の細いガラス管の先端に 0.2 mm 径の細孔を有する注射針をとりつけ，発生孔が水槽幅方向に略一直線上に等間隔に並ぶように，上記の細管を 7 本一まとめにして配置し，[第 9 図 (a)] これらに 2 cm 径のガラス管を共通に接続して，この共通管を通して空気圧縮装置で空気を送りこんだ。[第 9 図 (b) 装置 I] 又気泡数を大分布密度で発生させるには，1 cm 径の薄い鉄板管に 0.3 mm 径程度の細孔を 1 cm の等間隔に 49 個あけ，同じく空気圧縮装置で空気を送りこんだ。[第 9 図 (a) 装置 II] 送りこむ空気量を加減して気泡数を調節し，気泡大いさと数は水中カメラで撮影して，発生状態を調べて，それから反射損失を測定するようにした。第13図には，その分布状態を水中カメラで撮影した一例を示す。気泡の大いさは水中に入れたスケールの目盛から求めたが，1~3 mm 径のものが多く，1 mm 径以下のものも少数混入している。気泡数を変えた場合，種々の場合について，その気泡の大いさを調べたが，凡そ 1~3 mm 径のものが殆ど大部分で，2 mm 径のものが一番多いように観察された。気泡数は，水槽断面の数ケ所で水中カメラで写真をとり，分布密度の平均を求め，全体数を推定した。第 13 図はストロボ同調による高速度撮影であるが写真にみるように，気泡は球体と見做してよいであろう。気泡数を更に多く発生させるには，上記後者の装置を 5 cm の間隔で 2 台併用する。気泡は螺旋状を画いて上昇してくるから水槽上部になるに従って，気泡群の厚みは広がって，水槽上部で約 20~35 cm 位であるが，勿論，パルス幅内にある。気泡数を余り多く増加すると気泡が互に附着してきて，分布が乱れてくるから気泡のような多重散乱性のものでは，このような状態は特に避ける



Fig. 13. Distribution of bubbles in the water tank

きであろう。本実験では気泡数 500 個～900 個間は気泡発生装置 I で，1000 個～4000 個間は発生装置 II で，4000 個以上は発生装置 II を 2 台併用した。

B）気泡群の反射損失の測定

気泡数 N を変化して，50 kc 及び 200 kc で置換法を用いて気泡群の反射損失を測定し，その結果を整理したものが第 14 図の点線で結んだ実測値群である。気泡の場合は，50 kc 及び 200 kc の両場合共に，気泡数 N の変化に対して，反射損失は $\sqrt{N}$ に反比例する傾斜と，N に反比例する傾斜の中間で，N に反比例する傾斜に近い傾向である。然し気泡は移動しているので，マージン測定

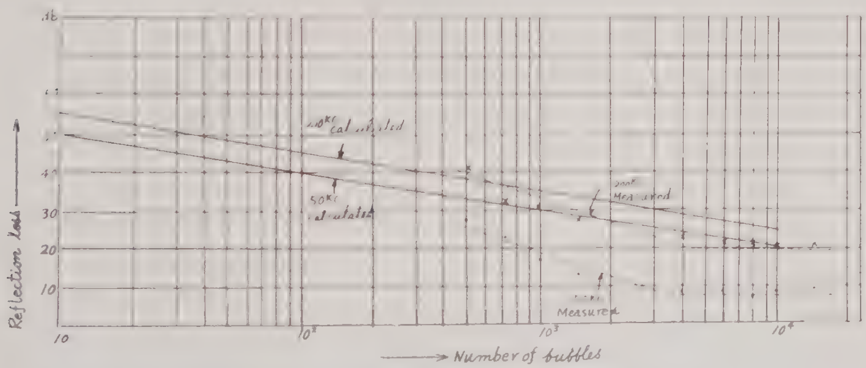
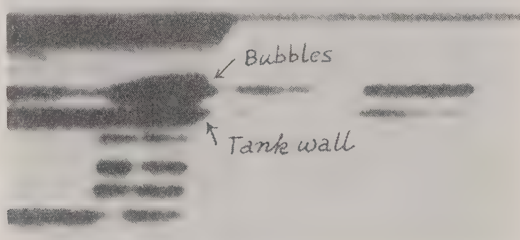
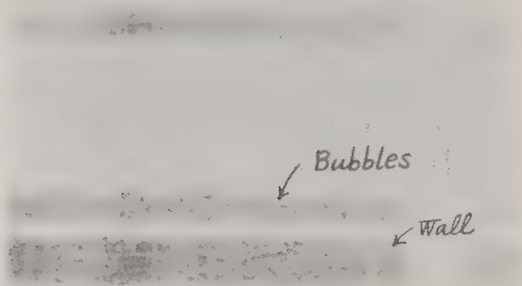


Fig. 14. Diagrams of reflection loss versus numbers of plankton N

中，反射音圧を別にシンクロスコープ上で観察していると振幅はかなり変動しているのが観察される。気泡数 500 個～4000 個（面密度にして平均 0.2～1.6 個/cm^2 位）迄は，以上のような傾向であるが，気泡数がそれ以上になると反射損失は，50 kc 及び 200 kc 共に一定化してくる傾向をもつ。又 50 kc の方が 200 kc より反射損失は小さく実測された。第 15 図に，反射損失測定時のマージン



(a)



(b)

Fig. 15. Echograms of reflection from air bubbles
(a) To 50 kc ultrasound　　(b) To 200 kc ultrasound

測定の一例を示す。尚，気泡に対しては，$g \simeq 1.3 \times 10^{-3}$，$h \simeq 0.22$ という値ははっきりしているので，半径 1 mm の気泡が一番多く発生されているとみて，これを代表的半径として $a = 0.1$ cm として第 2 図を用いて 50 kc 及び 200 kc の場合の $ka \simeq 0.21$，$ka \simeq 0.84$ の場合の $|\dot{\gamma}_1|$ を求め更に β_1 を求めると，夫々 β_1 として 50 db 及び 65 db 程度と推測される。従って (9) 式に従って，気泡群の反射損失を推測したものが第 14 図の実線群である。推定値と実測値の比較については，4 の考察の項で補足する。

4 考　　察

実験水槽内に於けるプランクトン群，気泡群，の反射損失の測定結果から，若干の考察を附加することにする。

(a) プランクトン群の反射損失の測定結果は，$a = 0.1$ cm，$g \simeq 1.1$，$h \simeq 1.1$ と数値的に考えた推定値より約 10 db 程度小さく求められた。h 自身，現在の所確認し難いので，理論的推定値は厳密には，保証し難いが，かりに h が $h \simeq 1.1$ 附近に多少変化したとしても，$h > 1$ であれば，その

β_1 に及ぼす影響は小さい。それで一応この種のこの大いさのプランクトンの β_1 として $\beta_1 \simeq 106$db として，その前後を考えてよいと思う。もし $h<1$ であれば，かなり β_1 に影響してくるであろう。

実測値が小さく得られたと思われる原因としては，一つには，プランクトンが沈下していく時の水の擾乱の影響が考えられる。即ち，反射損失測定時のマージン測定の場合，プランクトン群が全部水槽底に沈下してしまっても，暫時（プランクトン沈下量によって異なるが 10 秒前後），反響像が尾を引いて，弱く記されることを観察した。プランクトンのような比較的反射損失の大きいものでは，この影響は無視出来ないと考えられる。この種では，触覚，脚部等の構造が特に関係あるのではなかろうか。又今回の実験では，試料の関係で，分布密度としては平均で，0.2 個/cm^3 程度までしか実験できなかったが，分布はどうしても均一にはならないから部分的には，個々が極めて接近したり，又は触れ合う状態も生じてくるので，こういう状態は一方に於いては，実質的には体積の増加になったり，一方に於いては，数の減少となったりして作用し，結果としては，体積増加的効果の方が表われるのかも知れない。又プランクトンの体長も，2 mm 附近のものをなるべくあつめたが，3 mm 位のものも混在している（体長の 2 mm 以下のものは殆どない）ので少くとも反射損失減少の方向には働いたと考える。プランクトンの分布密度が，もっとずっと大きくなれば，反射損失のプランクトン数 N に対する変化も，或は飽和的になるかも知れない。50 kc の場合，0.2/cm^3 程度の分布密度までは，反射損失はプランクトン数 N の平方根に反比例する傾向は認めた。200 kc では，実測値の変動は 50 kc より大きく，この傾向は，はっきりしない。200 kc の場合は，厳密には Rayleigh 領域から出るので，現象は複雑になる可能性がある。反射損失は 200 kc が 50 kcの場合より反射損失は小さく，プランクトン群の探索ということだけでは，この方が有利であろう。

(b) 気泡群の反射損失の測定に於いては，発生し得た気泡は使用周波数（50 kc と 200 kc）に対しては，共振半径以上の大きいものであるから，このような大いさの気泡は，この周波数領域では，質量リアクタンス要素として作用するから，原音場に対して励振された場合，周波数の高い方が反射が弱くなる性質を，本実験でも，定性的に示した。気泡の大いさも 2 mm 以下のものも混在しており，且，気泡発生移動による水の擾乱もあるだろうから，径 2 mm と想定した推定値より，反射損失が小さい方向にでたことは，了解出来る方向である。気泡の場合も，分布が面密度にして平均して 1.6 個/cm^2 程度になると，この大いさの気泡では，反射損失が一定化してくる傾向が見られるが，これは，この程度の分布になってくると，実質的には，空気のスクリーンが出来るものと解される。気泡のような多重散乱性のものが数多くなった場合は，(8)~(9) で与えた群反射の理論は，そのまま適用出来ないと思われる。実験に於いても，反射損失が気泡数 N の平方根に反比例するという関係は，実験の条件下では認め難かった。

5 結　　言

以上 2~4 に於いて述べたことから要約すると，次のことは言える。

(1) 海中小反射体について，単体の場合，球状で且縦振動のみ励振されるものと仮定して，近似的に微小体の音圧反射率 $|\dot{\gamma}_1|$ および traget strength T_s 又は反射損失 β_1 を表示する近似式を誘導した。

群体の場合も，各個体から一回づつ反射されるものとして仮定した場合の反射損失を，上記の β_1 をもとにして求めた。

(2) 水槽実験に於いて，プランクトン群の反射損失の測定を行い，体長 2 mm 程度のものが 0.2 個/cm^3 程度の分布密度までの範囲で，反射損失はプランクトン数 N の平方根に反比例するという近似理論の傾向は 50 kc では認められた。然し 200 kc では，はっきりしない。尚 50 kc の

場合，反射損失の近似的推定値より 10 db 程度，実測値は小さいが，この種の正確を期し難い問題では，比較的よい近似と思う。

(3) 気泡群の反射損失の測定では，群体の反射損失の近似理論は，そのまま適用し難いようあである。これは気泡のような強い反射性のものは，数や分布方法によって，大きい影響が出るためで，測定方法上の正確さが更に要求される問題である。尚関連した結果として，半径 1 mm 程度の気泡に対しては，200 kc の方が 50 kc より反射損失が大きいことを実験的にも認められた。

文 献

1) Rayleigh, L. (1917). *Theory of Sound II.* 540 p. London; Lowe & Brydone Ltd.
2) Stenzel, H. (1938). E. N. T. 15 (3), 71.
3) Anderson, V. C. (1950). *J. A. S. A.* 22 (4), 426.
4) Duvall, G. E. (1942). *UCDWR* (M40), 6.
5) Saneyoshi, J. (1951). *Bull. T. I. T.* **B**, (3), 127.
6) —— ——. (1953). *Ibid.* **B**, (6), 13.
7) 実 吉外 (1952). 日本音響学会誌 8 (3), 123.
8) 橋 本外 (1953). 漁船研技報 (4) 143.
9) ——— (1954). 同 誌 (5) 167.
10) —— (1955). 同 誌 (6) 113.
11) ——— (1958). 日本音響学会誌 14 (4), 318.

CHEMICAL STUDIES ON THE MEAT OF ABALONE
(*Haliotis discus hannai* Ino)-II*

Eiichi Tanikawa, Minoru Akiba and Jiro Yamashita**
(*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)

V. DETECTION OF MUCOPROTEIN IN ABALONE MEAT

There is found a mucous substance on the surface of the abalone body. This may be due to a gland secretion similar to that in the snail. When a small quantity of the mucous substance collected by rubbing off from the body surface was tested by Biuret reaction, Xanthoprotein reaction, Millon reaction, Sakaguchi reaction and diazo reaction, all of them showed positive. That is to say, the presence of a protein substance was definitely and certainly proven. The presence of free sugars, amino sugars and uronic acid was likewise ascertained by Molish reaction and naphthoresorcinol reaction. Therefore, the mucous substance might be supposed to be a mucoprotein. Here the authors describe their examination of properties of the mucoprotein.

1. Extraction of mucoprotein from abalone meat

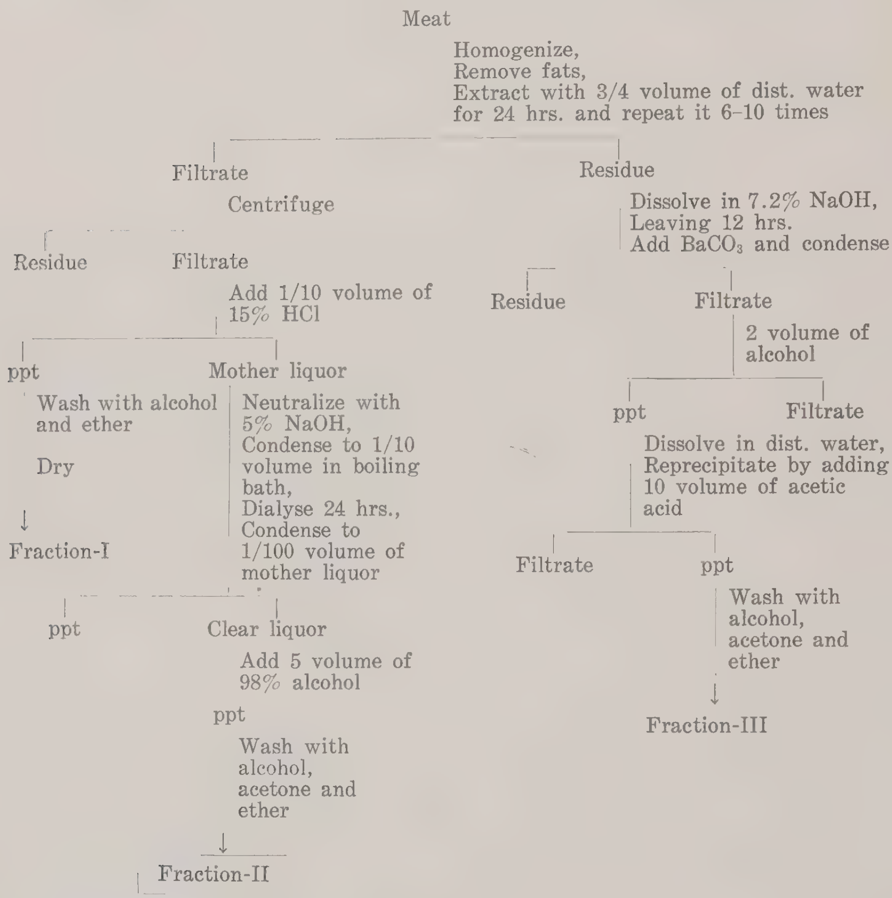
For the preparation of the mucoprotein from the meat of abalone, the meat was extracted with water, then the mucoprotein was fractionated after Scheme **1**, following the methods employed by Blix[1], Meyer[2] and Tanabe[3].

The eviscerated bodies of abalone were crushed and then defatted with ether. The prepared meat was extracted with three-fourth volume of water for 6 hours. Thus the extraction was repeated seven times at 24-hour intervals. The extracted solution collected was centrifuged. One-tenth volume of 15% HCl solution was added to the upper transparent liquor obtained after the centrifugation. The precipitate obtained here was called Fraction I. The precipitate was filtered, and the deposit was washed with water thoroughly until Cl^- disappeared. The washed substance was treated with alcohol and ether and dried after Blix[1].

The filtrate obtained by removal of Fraction I was neutralized with 5% NaOH solution, and was evaporated in a dish to the volume of one-tenth on a water-bath. The condensed liquor was dialyzed in running water for 24 hours.

* Continued from the previous paper I, published in this Bulletin, **12** (3), 212 (1961).
** Present adress: Laboratory of Daiwa Can Co. Ltd., Shimidzu, Shizuoka Pref.

Scheme 1. Preparation of mucoprotein from *H. discus hannai* meat



After dialysis, the liquor was evaporated again to the volume of one one-hundredth. After the condensation, the liquor was cooled and centrifuged to remove the deposit. Ninety-five % alcohol was added to the upper transparent liquor, then some precipitate was obtained. This precipitate was treated with alcohol and ether and then dried. This final material was called Fraction II.

The residue of water extraction of abalone meat was treated with 300 cc of 7.2% NaOH for 24 hours. $BaCO_3$ was added to the alkaline extracted solution obtained and it was condensed on a water-bath. The condensed solution was centrifuged to remove the deposit. Two times volume of 95% alcohol was added to the upper transparent brown liquor, then grey precipitate was obtained. The precipitate was dissolved with water. Ten volumes of glacial acetic acid was

added to the solution, then some precipitate was obtained. This precipitate was centrifuged. The precipitate was treated with alcohol, acetone and ether, and then it was dried on P_2O_5 in a desicator. This was called Fraction III. In the upper transparent liquor after the centrifugation, many colourless needle-shaped crystals were produced after standing over one night.

Thus Fractions I, II and III were obtained. The yield amount of Fraction I was the least (0.05% of original meat), the amounts of Fractions II and III were 0.17% and 0.31%, respectively.

Samples of each fraction were tested qualitatively by means of various reactions similarly to those used for the mucous substance on the surface of the abalone meat. In consideration of the results obtained, in each fraction there are certainly protein, amino-sugar, uronic acid similarly to the contents of sea cucumber meat[4].

The substances in each fraction were not precipitated by mercuric chloride or by heating.

2. Detection of the kinds of carbohydrates by means of paper chromatography

The kinds of carbohydrates in the substances of each fraction were detected by means of paper chromatography after Hirase and Araki[5], and Satake[6].

(1) Preparation of sample for chromatography

Writers hydrolyzed each 5 mg samples of the substances of each fraction to which was added about 3 cc of 1 N H_2SO_4 in a closed glass tube on a water bath at 100°C for 5 hours. After hydrolysis, $Ba(OH)_2$ was added to each solution to make pH value 5.8, and then preparate was centrifuged. The upper transparent liquor obtained was used for paper chromatography.

(2) Developing solvents and revealing reagents

As developing solvents, a mixture of butanol, acetic acid and water (5:1:2) was used. The method of development was by one-dimensional chromatography by ascending solvent. As revealing reagents, a mixture of butanol containing acetylacetone (0.5 cc) and 80% alcohol containing 10% KOH (butanol : alcohol = 1 : 50) was used. The developed spots were sprayed with the mixture causing acetylation, and then heated at 105°C for 5 minutes. After the treatment, the spots were revealed with Ehrlich reagent.

The paper chromatograms revealed by Ehrlich reagent are shown in Fig 1. As seen in Fig. 1, in Fraction I glucuronic acid, galactose, and N-acetyl glucosamine were detected; in Fraction II glucuronic acid, galactose, fructose, N-acetylglucosamine, and fucose were detected; and in Fraction III glucuronic acid, galactose, fructose, and N-acetylglucosamine were detected.

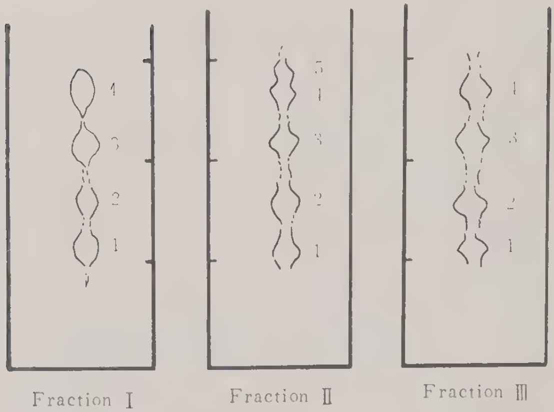


Fig. 1. Paper chromatograms revealed by Ehrlich reagent
1. Glucuronic acid 2. Galactose
3. Fructose 4. N-acetylglucosamine
5. Fucose

(3) Quantitative estimation of mucoprotein in the meat of abalone

The total amount of nitrogen was estimated by the micro-Kjeldahl method. Acid-hydrolyzable sulfur was estimated gravimetrically as $BaSO_4$ after hydrolysis with 1 N HCl solution. The amount of glucuronic acid was estimated by Tanabe's method[7]. The estimation of reducing power was carried on after Fujita[8]. The amount of galactose was estimated by Hagedorn-Jensen's method which was employed by Gale[9]. The estimation of acetyl radical was done after Suzuki[10]. The estimation of the amount of amino sugar was done by colorimetry which was employed by Masamune and Nagazumi[11]

Results obtained are shown in Table 1, in which the results obtained from sea cucumber meat[4] are presented in company with those from abalone meat.

Table 1. Comparative results on mucoprotein prepared from abalone (*H. discus hannai*) meat with sea cucumber meat

Items / Fractions	Fraction I	Fraction II	Fraction III	Sea cucumber[4]
Total-N (%)	11.51	39.8	16.50	13.03
Acid-hydrolyzable sulfate (%)	0.72	1.31	0.97	1.27
Glucuronic acid (%)	0.52	5.56	8.10	7.83
Reducing power	22.60	16.70	21.40	25.75
Galactose (%)	8.23	4.30	7.42	7.81
Acetyl (%)	1.71	2.85	3.62	4.83
Ash (%)	0.98	3.68	6.61	1.08

(4) Nitrogen distribution of the protein moiety in the mucoprotein

The substances in each fraction from the prepared mucoprotein were hydrolyzed with 20% HCl solution. After hydrolysis, the nitrogen distribution was determined by Van Slyke's method. The results obtained are shown in Table 2.

Table 2. Nitrogen distribution in each fraction of mucoprotein isolated from abalone (*H. discus hannai*) meat

Items \ Fractions	Fraction I	Fraction II	Fraction III
Total-N	100	100	100
Amide-N	1.87	2.36	5.67
Humine-N	7.30	8.50	3.70
Basic total-N	32.12	36.43	37.14
Basic amino-N	6.90	7.58	5.51
Mono amino total-N	52.10	51.04	55.60
Mono amino amino-N	28.70	30.28	37.06

As seen in Table 2, the ratios of the amount of basic amino acid nitrogen to the total amount of nitrogen in Fractions I, II and III were 32.1, 36.5 and 37.1%, respectively, while the ratios of the amount of mono amino acid nitrogen to the amount of the total nitrogen were 52.1, 51.0 and 55.6%, respectively. Comparing those values with the fractionated proteins, which are detailed in Article II, in previous paper I[12] the nitrogen distribution of mucoprotein was observed to be almost the same as that of the raw abalone meat and hot water extractives. That is to say, the distribution of nitrogen of Fraction II was like that of abalone meat and the nitrogen distributions of Fractions I and II were like hot water extractives of abalone meat.

(5) On the colourless needle-shaped crystals

As above mentioned, colourless needle-shaped crystals remained in the upper transparent liquor after addition of acetic acid to the water extraction of abalone meat and centrifugation.

The upper transparent has shown a strong flow birefringence. After the liquor was filtered, the filtrate showed no flow birefringence. The crystals on the filter paper were collected and dissolved into water. This aqueous solution showed flow birefringence. When the crystals were burned, they melted then carbonized. The crystals were ascertained to contain C, N and S by qualitative tests. The m.p. was 144°C. The crystals will be studied in future to confirm whether they are hyaluronic acid.

VI. DECOMPOSITION OF THE ABALONE MEAT

The abalone is used for preparing canned food or dried food. Moreover, it is used for eating as raw meat ("Sushi" or "Sashimi"). Therefore, it is important to know the freshness of the meat and the limit of the freshness for using as raw material of canned food or dried food.

Here, the author describes his attempts to learn the velocity of the falling of freshness, and the products due to decomposition when the abalone meat was left and allowed to decompose.

1. Changes in the amount of volatile basic nitrogen when the abalone meat is left

(1) Experimental method

Fresh *Haliotis discus hannai* caught near Hakodate was used. From the abalone viscera mass was removed and the body was employed as samples, while the abalone without removal of visceral mass was also employed. Each two carcasses were left as they are at 35° (± 2°C), 20° (± 2°C) and 5°C (± 2°C) respectively, and the abalone meat was allowed to decompose aerobically. At certain definite intervals of leaving time, a sample of each abalone meat was taken off; on such portions the amount of volatile basic nitrogen (V.B.-N) was estimated by Weber and Wilson's method[13]. The hardness of the abalone meat was estimated by Tauchi's hardness-meter[14]. From the amounts of V.B.-N produced, limit of the leaving time at a certain temperature as raw material were determined.

Table 3. Changes in amount of V. B.-N, pH and hardness of abalone in shell at 35°C

Leaving time (hrs.)	V. B.-N (mg%)	pH	Hardness	Organoleptic test
0	2.01	6.2	80	Fresh smell
5	3.34	6.2	55	〃
12	6.48	5.8	65	〃 , Softening of meat
16	13.35	6.0	59	Fishy smell, 〃
19	21.80	6.2	56	Slight putrefactive odor
21	24.25	6.4	58	Strong putrefactive odor
14	40.50	6.4	59	〃
28	46.54	6.6	62	〃
48	64.20	6.8	65	〃

(2) Results

At the respective leaving temperatures, the variations in amount of V.B.-N in the abalone meat, pH and hardness are as shown in Tables 3~7 and Fig. 2.

Table 4. Changes in amount of V. B.-N, pH and of abalone in shell at 20°C

Leaving time (hrs.)	V. B.-N (mg%)	pH	Hardness	Organoleptic test
0	1.33	6.2	64	Fresh smell
13	4.54	6.0	70	〃
19	15.34	6.2	54	Slight putrefactive odor
22	24.60	6.4	50	Strong putrefactive odor
26	35.56	6.4	50	〃
35	41.81	6.6	55	〃
54	55.35	6.4	57	〃

Table 5. Changes in amount of V. B.-N, pH and hardness in shell at 5°C

Leaving time (hrs.)	V. B.-N (mg%)	pH	Hardness	Organoleptic test
0	3.34	6.2	80	Fresh smell
144	4.68	6.2	53	〃
168	6.02	6.4	60	〃
192	9.72	6.4	60	〃
216	16.54	6.4	58	Slight putrefactive odor
230	22.03	6.4	62	〃
254	27.38	6.6	57	〃
278	36.20	6.6	55	〃
302	39.07	6.6	55	〃

Table 6. Chaeges in amount of V. B.-N, pH and hardness of eviscerated abalone meat at 20°C

Leaving time (hrs.)	V. B.-N (mg%)	pH	Hardness	Organoleptic test
0	1.33	6.2	64	Fresh smell
13	5.74	5.8	45	〃
16	6.02	6.0	43	〃 . Softening of meat
19	14.78	6.0	40	Slight putrefactive odor
22	17.35	6.2	36	Strong putrefactive odor
30	34.80	6.2	37	〃
36	44.24	6.4	39	〃
50	58.10	6.6	42	〃

Table 7. Changes in amount of V. B.-N, pH and hardness of eviscerated albalone meat at 5°C

Leaving time (hrs.)	V. B.-N (mg%)	pH	Hardness	Organoleptic test
0	1.32	6.2	64	Fresh smell
24	4.68	6.2	60	〃
48	6.96	6.1	65	〃
72	12.68	6.0	72	〃
96	15.35	6.2	62	〃
120	18.21	6.2	63	Slight putrefactive odor
144	21.90	6.4	60	〃
168	30.78	6.4	65	Strong putrefactive odor

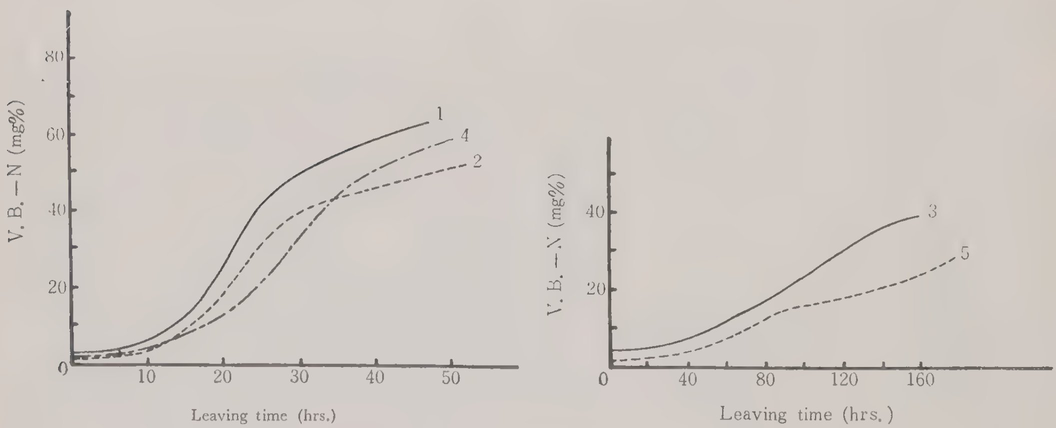


Fig. 2. Changes in amount of volatile basic nitrogen during the leaving of *H. discus hannai*

1. Abalone in shell (35°C)
2. Abalone in shell (20°C)
3. Abalone in shell (5°C)
4. Eviscerated abalone (20°C)
5. Eviscerated abalone (5°C)

As seen in Tables 3~7 and Fig. 2, the pH value of the abalone meat decreased once at the stage in which the amount of V.B.-N increased to 6~8 mg%, then it increased. The hardness of the abalone meat increased also at the stage in which the pH value decreased, and thereafter decreased; the meat became soft. When the amount of V.B.-N increased above 15 mg%, the putrefactive odour was slightly noticeable. When it reached above 20 mg%, the putrefactive odour became strong. In the case of leaving abalone meat at 5°C (± 2°), when the amount of V.B.-N increased to 20 mg%, the abalone meat gave off slightly a

putrefactive odour.

The leaving time of abalone in shell at which the amount of V.B.-N reached to 20 mg% was about 140 hours. The reason why the abalone kept fresh for longer time at 5°C will be interpreted by Kinoshita and Nakagawa's studies[15] in which they have clarified that abalone in shell is alive for a long time, if it is left at about 6°C.

2. Calculations of decomposition velocity coefficient, temperature coefficient and temperature constant

From data obtained as shown in Fig. 2, the decomposition velocity coefficient, (K), temperature coefficient (Q_{10}) and temperature constant (B) were calculated in the same manner as in the case of Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) meat[16].

The results are shown in Tables 8 and 9.

Table 8. Decomposition velocity coefficient (K) of abalone meat at various temperatures

Abalone in shell		Eviscerated meat after removed from the shell	
Storing temp. (°C)	$K = k \times 10^3$	Storing temp. (°C)	$K = k \times 10^3$
35	136	20	52
20	121	5	17
9	13	—	—

Table 9. Values of temperature coefficient, (Q_{10}), and temperature constant (B) of abalone meat

Abalone in shell			Eviscerated meat after removed from the shell		
Storing temp. (°C)	Q_{10}	B	Storing temp. (°C)	Q_{10}	B
5～20	4.79	24,000	5～20	4.82	24,000
20～35	1.10	1,390			

As seen in Table 8, except in the case of leaving temperature of 5°C, the higher the leaving temperature, the larger the value of "K". The value of "K" of abalone meat in shell was larger than that of viscerated meat removed from the shell. This may be due to the fact that decomposition of the meat in shell was rapid owing to the digestive enzymatic action after death in the shell. At 5°C leaving temperature, the abalone in shell may perhaps be alive for a rather long time. In order to keep fresh, abalone must be stored at low tem-

perature at which it keeps alive.

The value of "K" of abalone at various temperatures is compared with those of other marine creatures obtained by Tanikawa[4, 17~20] as shown in Table 10.

Table 10. Values of "K" in abalone meat compared with those of other marine creatures ($K \times 10^3$)

Species	5°C	15°C	20°C	25°C	35°C
Sea cucumber[4]		17		28	29
Atka mackerel[17]		22		36	61
Crab[18]		22		74	91
Mackerel[19]		30		99	114
Squid[20]				103	151
Abalone in shell	13		121		136
Eviscerated abalone meat after removed from the shell	17		52		

As seen in Table 10, the raw abalone meat is easily decomposable at comparatively high temperature after death.

The values of "Q_{10}" and "B" of abalone meat at 20° or 25°C in comparison with those of other marine creatures are shown in Table 11.

Table 11. Values of "Q_{10}" and "B" of abalone meat and those of other fish meat

Species	Temp. range	Q_{10}	B
Atka mackerel[17]	above 25°C	1.5	8×10^3
	below 25°C	3.5	21×10^3
Mackerel[19]	above 25°C	1.2	3×10^3
	below 25°C	3.6	22×10^3
Abalone in shell	above 20°C	1.1	1×10^3
	below 20°C	4.8	24×10^3
Eviscerated abalone meat after removed from the shell	below 20°C	4.8	24×10^3

As seen in Table 11, at comparatively high storing temperature raw abalone meat is decomposable, so it must be kept alive at about 5°C in order to keep it fresh.

3. Calculation of initial decomposition velocity coefficient

As it is important to know the initial decomposing coefficient, the authors have determined the relation between the storage time and amount of V.B.-N produced until that amount reaches to 20 mg% at which the putrefactive odour

begins to be noticeable and the pH value increases rapidly, as seen in Tables 3~7.

The coefficient of the velocity of incipient putrefaction, "*P*", was calculated in the same manner as in the case of Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) meat.[16]

The values of "*P*" obtained are compared with these from other fish meat[20,21] as shown in Table 12.

Table 12. Values of coefficient of the velocity of incipient putrefaction "*P*" of abalone meat compared with corresponding values of other fish meat

Temp. (°C) \ Species	Autumn squid meat	Salmon[21]	Abalone in shell	Abalone: Eviscerated abalone after removed from the shell
35	0.082	0.367	0.040	—
25	0.023	0.023	—	—
20	—	—	0.027	0.029
10	0.003	0.013	—	—
5	—	—	0.002	0.002

As seen in Table 12, at temperature lower than 20°C, raw abalone meat is less decomposable than other raw fish meat in the initial stage of storing.

4. Decomposition products during the leaving of abalone meat

Various kinds of decomposed products will be produced in the decomposition of raw abalone meat. The authors have employed the amount of V.B.-N as an index of the degree of decomposition. Here are described the efforts to detect the kinds of decomposed products by means of paper chromatography at various stages of decomposition, at which the amounts of V.B.-N were estimated.

As sample use was made of raw abalone meat viscerated after removal from the shell. To detect the kinds of volatile basic nitrogen by paper chromatography, 30 g of the crushed raw abalone meat was steam-distilled in 5 cc of 10% NaOH solution. The distillate was collected in 5 cc of 1 N HCl solution. Then about 50 cc of the distillate was obtained; the distillate was evaporated in a dish on a water bath. The remainder substance was dissolved with 0.5 cc of water. This solution was employed as a sample for paper chromatography.

As a developing solvent, water was added to a mixture of benzyl alcohol and glacial acetic acid (3:1) until the mixture became turbid. The mixture was shaken before use. The method of development was by one-dimensional chromatography. As revealing agent 0.1% ninhydrin-butanol solution was used.

To detect histamine, 10 g of the crushed raw meat of abalone was made

acidic (below pH 3.0) by addition of acetic acid, and the meat was left for a short time after the addition of 50 cc of 95% alcohol; then the mixture was centrifuged. The upper transparent liquor was evaporated on a water-bath. The condensed substance was dissolved with a small quantity of water to make the volume to about 1 cc. This solution was used as a sample for paper chromatography.

As a developing solvent butanol solution saturated with 1 N ammonia solution was employed. As a revealing reagent a mixture of dilute hydrochloric acid solution containing 0.3% sulfanilic acid and 5% sodium nitrite solution (1:1) was used. This revealing reagent was sprayed on spots in the filter paper after which 1 N NaOH solution was sprayed.

To detect volatile organic acids, 30 g of the crushed raw abalone meat was steam-distilled with 50 cc of water containing 5 cc of conc. sulfuric acid. About 300 cc of distillate was extracted with ether for 18 hrs., then the ether was evaporated to make the solution about 1 cc. Thirty cc of absolute alcohol and 7.5 cc of conc. H_2SO_4 were added to the condensed solution to esterify at 140°C for 2 hrs. The not completely esterified solution was neutralized with sodium carbonate. The completely esterified solution was distilled at 70°C, to make potassium hydroxamate with hydroxylamine HCl-salt. This solution was employed as a sample. As the developing solvent n-butanol solution saturated with water was used. As revealing reagent use was made of methanol solution saturated with $FeCl_3$.

Results obtained are shown in Table 13, and Fig. 3. As seen in Fig. 3,

Table 13. Organic acids and bases detected at various leaving time (hrs.)

Leaving time (hrs.)	V. B.-N (mg%)	Organic bases detected
13	5.74	Tyrosine, Histidine
16	6.02	Tyrosine, Histidine
19	14.78	Tyrosine, Histidine, Agmatine, Cadaverine, Putrescine, Formic acid
22	17.35	Tyrosine, Agmatine, Cadaverine, Putrescine, Formic acid
30	34.80	Tyrosine, Agmatine, Iso-amylamine, Formic acid, Acetic acid
36	44.24	Tyrosine, Histamine

when the amount of V.B.-N reached to 14.78 mg% after the abalone meat had been left for 19 hours, agmatine, cadaverine, putrescine, formic acid were detected. Further more, when the amount of V.B.-N reached to 17.35

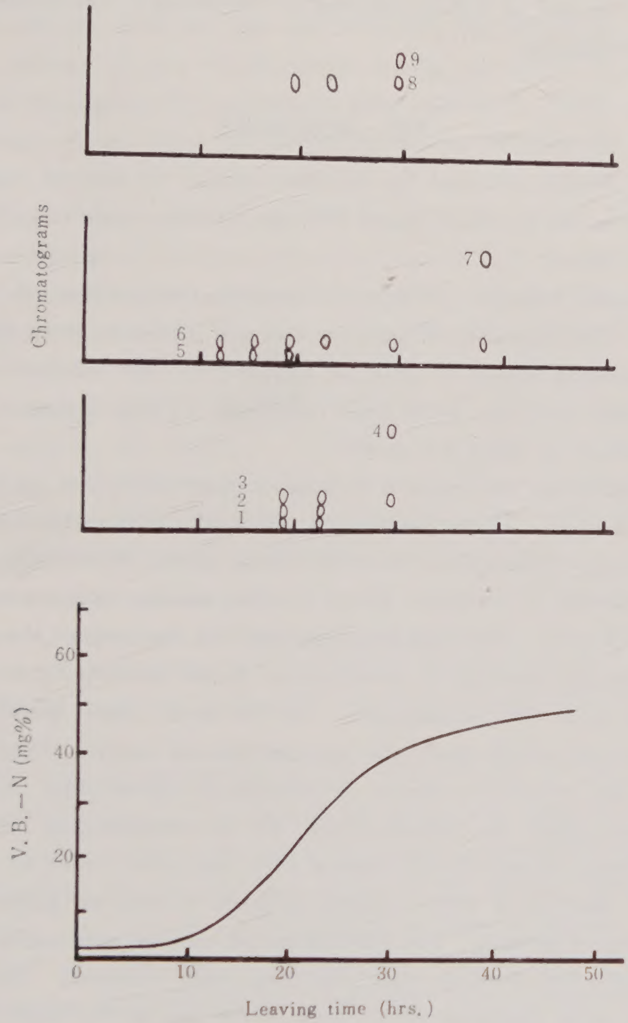


Fig. 3. Relation between the kinds of organic acids and bases detected and the leaving times of eviscerated abalone meat (20°C)

1. Putrescine	2. Cadaverine	3. Agmatine
4. Iso-amylamine	5. Histidine	6. Tyrosine
7. Histamine	8. Formic acid	9. Acetic acid

mg% after the meat had been left for 22 hours, the same kinds of organic acids and bases were detected. In the same way, at 34.80 mg% of V.B.-N among the organic bases cadaverine and putrescine disappeared, they may have decomposed by bacterial action. After 36 hours' leaving, histamine was detected besides the organic bases above mentioned.

When the amount of V.B.-N reached to 15~20 mg%, the putrefactive odour began to smell slightly.

VII. SUMMARY

From the results obtained by chemical studies of abalone meat, including those reported in the previous paper I[12], the authors wish to summarize their conclusions as follows:

(1) Seasonal changes of general chemical composition of abalone meat were studied. The amounts of protein, fat and glycogen were maximum just before the spawning season of July to August. On the contrary, the amounts of water content and ash were then minimum. Those changes were almost same as are found in other fish meats.

(2) Distribution of nitrogen in raw abalone meat and in hot water extractive was studied. From the results obtained, within the total content of nitrogen 57% was estimated to be mono amino acids, whilst 35% was diamino acids. The amount of diamino acids in raw abalone meat was larger than that of other fish meat. This may be concerned with the taste of the abalone meat.

(3) From the histological observation of raw abalone meat, it was noted to be different from that of fish meat. In fish meat, many muscle bundles are situated in parallel, and between the separate muscle bundles there is connective tissue. But the connective tissue of abalone is found only at the part of epithelial tissue, while the muscle fibres run horizontally and vertically in all directions. Those muscle fibres connect with epithelial tissue at their ends.

(4) The amount of water soluble protein of abalone meat was 22% of the total amount of protein. The solubilities of abalone meat with acid solution, alkaline solution and various salts solutions were observed. In general, the solubilities by acid solutions differ from those by hydrochloric and sulfuric acids, and the solubility by alkaline solution increased with the increase of the concentration.

(5) The isoelectric point of water soluble protein of the abalone meat was pH 4.8~5.2, and that of NaCl solution soluble protein was pH 5.2. The reason why the isoelectric point has some range is the fact that the protein does not have a single components, but consists of several components.

(6) It was observed that the phenomenon of the flow birefringence in the water-extractives of abalone meat does not occur in the first extraction, but several extractions later. The phenomenon does not appear after the filtration of the extractives and furthermore also the phenomenon disappears after the

heating of the extractive above 65°C. As histologically observed, the muscle fibres of the abalone meat are fine and arranged like net-work. So the appearance of the pattern of flow birefringence in the extraction of abalone meat is considered to be due to the mechanical deformation of muscle fibre, by which the fibre flakes will be dispersed in the extractive showing the pattern of flow birefringence.

(7) When abalone meat is soaked in water at various temperatures, the ratio of dehydrating of abalone meat decreased largely at higher temperatures like to that of sea cucumber meat. Accordingly it is assumed that the muscle fibre of abalone meat takes the form of a net-work construction like that of sea cucumber meat.

(8) The heat coagulation of the extractives of abalone meat with water or 0.5 N NaCl solution was observed. According to the results obtained, the heat coagulation of water-soluble protein was completed within two temperature ranges from 45° to 50°C and from 60° to 65°C. The main component of the coagulable protein in this case is considered to be myogen.

The protein which is coagulated at the lower temperature (40°~55°C) is actually myosin, while that at the higher temperature (60°~70°C) is considered to be myogen. The presence of two kinds of proteins was also observed in the heat coagulation curve of 0.5 N NaCl solution-soluble protein and in the dehydrating curve.

(9) The degrees of swelling of the abalone meat in the solution of salts are different according to the concentration of the solutions, similarly those in solutions having various pH values are different according to the pH value. Generally speaking, the dgrees of swelling of the abalone meat are less than those of fish meats such as Alaska pollack or Atka mackerel. This is due to the histological characteristics of the abalone meat muscle which shows a net-work construction of muscle fibres. This net-work construction of the muscle tissue prevents penetration of water into muscle tissue resulting in difficulty of hydration.

(10) As to the hydration of the abalone meat, the water-content (g)—relative vapour pressure (p/p_0) curve in the fresh raw meat was determined. According to the results obtained, the hydrating properties of abalone meat protein are not remarkably different from those of other marine creatures, even though the amount of the protein differs from that of others.

(11) Mucoprotein was fractionated, and the amount obtained was 0.54%. The prosthetic part of the carbohydrate to the mucoprotein was proven to be N-acetyl glucosamine, fructose, galactose, glucuronic acid and fucose by paper

chromatography. The nitrogen distribution was estimated to be the same as that of the raw meat of abalone.

(12) The decomposition of abalone meat will advance at comparatively high temperatures, but at about 5°C the decomposition velocity was small; especially it is noteworthy that abalone in shell is alive for a long time.

The putrefactive odour begins to be noticeable at 15~20 mg% of V.B.-N on the way to decomposition. Therefore, abalone must be preserved at low temperature before the processing if it is desired to have live material.

Literature cited

1) Blix, G. (1936). *Z. physiol. Chem.* 240, 43
2) Meyer, K. (1936). *J. Biol. Chem.* 114, 689.
3) Tanabe, Y. (1938). *J. Biochem. Japan.* 28, 227.
4) Tanikawa, E. (1955). *Mem. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 3, (1), 1.
5) Hirase, S. & Araki, C. (1951). "*Kagaku-no-Kenkyu*" (Chemical Researches), 5 (7), 28.
6) Satake, K. (1952). "*Chromatography*" 114 p. Tokyo; Kyoritsu-shuppansha.
7) Tanabe, Y. (1938). *J. Biochem. Japan.* 27, 251.
8) Cited from Koganei, R. (1942), "*Seikagakuteki-Biryoteiryoho*" (Biochemical microanalysis), 341 p. Tokyo; Katsuseido-shoten.
9) Gale, E. G. (1937). *Biochem. J.* 31, 234.
10) Suzuki, M. (1938). *J. Biochem. Japan.* 27, 367.
11) Masamune, H. & Nagazumi, Y. (1937). *J. Biochem. Japan.* 26, 223.
12) Tanikawa, E. *et al.* (1961). *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 12, (3), 212.
13) Weber, E. & Wilson, J. B. (1919). *J. Ind. Eng. Chem.* 11, 121.
14) Tauchi, M; cited from Kimura, K. (1938). "*Suisan-Seizo-Zensho*" (The manufacture of marine products), 10 p. Tokyo; Dainihon-Suisankai.
15) Kinoshita, T. *et al.* (1934). *Rep. Hokkaido Fish. Ex. St.* (258), 573.
16) Tanikawa, E. *et al.* (1960). *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 11 (3), 162.
17) ——————— (1954). *ibid.* 5 (3), 289.
18) ——————— (1953). *ibid.* 4 (1), 7.
19) ——————— (1954). *ibid.* 5 (2), 153.
20) ——————— (1954). *ibid.* 4 (4), 323.
21) ——————— (1958). *Mem. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 6 (2), 67.